



Диагностика возбудителя
Bipolaris zeicola

33

Идентификация рисовой
листовой нематоды

46

Испытания синтетического феромона
зимней пяденицы

57

ФИТОСАНИТАРИЯ. КАРАНТИН РАСТЕНИЙ

PLANT HEALTH AND QUARANTINE

Свидетельство
о регистрации СМИ ПИ
№ ФС 77-76606
ISSN: 2782-327X

Русско-английский научный журнал

Ноябрь № 4 (12) 2022

СТАТЬЯ НОМЕРА:

Как расселялся горчак ползучий 2

Инвазивные насекомые-фитофаги
в Крыму 16

Уникальная бабочка из Перу 66

Редакционная коллегия

Editorial board

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Е.И. НАЗИН, директор ФГБУ «ВНИИКР»

ШЕФ-РЕДАКТОР:

В.В. ОЛЕШКЕВИЧ, кандидат филологических наук

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА

Ю.А. ШВАБАУСКЕНЕ – заместитель Руководителя Россельхознадзора

Н.Н. СОЛОВЬЕВА – начальник Управления фитосанитарного надзора при экспортно-импортных операциях и международного сотрудничества Россельхознадзора, кандидат биологических наук

А.С. ШАМИЛОВ – эксперт ФАО по сельскому хозяйству, заместитель начальника группы по разработке стандартов Секретариата МККЗР, кандидат биологических наук

А.В. КОЧЕТОВ – директор ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», член-корреспондент РАН, профессор РАН, доктор биологических наук

М.Т. УПАДЫШЕВ – заведующий отделом биотехнологии и защиты растений ФГБНУ «ВСТИСП», член-корреспондент РАН, профессор РАН, доктор сельскохозяйственных наук

М.В. ПРИДАННИКОВ – заместитель директора Центра паразитологии при ИПЭЭ РАН им. А.Н. Северцова, кандидат биологических наук

Н.В. АЛЕЙНИКОВА – заместитель директора по научно-организационной работе ФГБНУ «Магарач» РАН, доктор сельскохозяйственных наук

А.В. ХЮТТИ – заведующий сектором «Грибных, вирусных, микоплазменных и нематодных болезней картофеля и овощных культур» ФГБНУ «ВНИИЗР», кандидат биологических наук

И.Т. БАЛАШОВА – главный научный сотрудник лаборатории новых технологий ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства», доктор биологических наук

Ф.С. ДЖАЛИЛОВ – заведующий лабораторией защиты растений МСХА им. К.А. Тимирязева, профессор, доктор биологических наук

А.И. УСКОВ – заведующий отделом биотехнологии и иммунодиагностики ФГБНУ ВНИИХХ им. А.Г. Лорха, доктор сельскохозяйственных наук

М.М. АБАСОВ – начальник коммерческого отдела ФГБУ «ВНИИКР», доктор биологических наук

К.П. КОРНЕВ – заместитель директора ФГБУ «ВНИИКР», кандидат биологических наук

О.Б. ДОБРОВОЛЬСКАЯ – заместитель директора ФГБУ «ВНИИКР», доктор биологических наук

Ю.А. ШНЕЙДЕР – начальник научно-методического и экспериментального центра ФГБУ «ВНИИКР», кандидат биологических наук

С.Г. ЗИНОВЬЕВА – специалист по связям с общественностью редакционно-издательского отдела ФГБУ «ВНИИКР»

РЕДАКЦИЯ

В.В. ЧЕРЕПАНОВА – редактор-корректор

Г.Н. БОНДАРЕНКО – начальник ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», кандидат биологических наук

Е.М. ВОЛКОВА – заведующая лабораторией сорных растений ФГБУ «ВНИИКР», кандидат биологических наук

Л.Г. ЧЕГЛИК – и.о. начальника отдела биометода ФГБУ «ВНИИКР»

Е.В. КАРИМОВА – начальник научно-методического отдела вирусологии и бактериологии ФГБУ «ВНИИКР», кандидат биологических наук

О.А. КУЛИНИЧ – начальник отдела лесного карантина ФГБУ «ВНИИКР», доктор биологических наук

М.Б. КОПИНА – начальник научно-методического отдела микологии и гельминтологии ФГБУ «ВНИИКР», кандидат сельскохозяйственных наук

С.А. КУРБАТОВ – начальник научно-методического отдела энтомологии ФГБУ «ВНИИКР», кандидат биологических наук

С.В. СУДАРИКОВА – старший научный сотрудник лаборатории гельминтологии ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР»

В.С. КУЧЕРЯВЫХ – переводчик, кандидат филологических наук

CHIEF EDITOR:

E.I. NAZIN, Director of FGBU "VNIICR"

MANAGING EDITOR:

V.V. OLESHKEVICH, PhD in Philology

EDITORIAL BOARD

YU.A. SHVABAUSKENE – Deputy Head of Rosselkhoznadzor

N.N. SOLOVYOVA – Head of the Department of Phytosanitary Surveillance for Export-Import Operations and International Cooperation of Rosselkhoznadzor, PhD in Biology

A.S. SHAMILOV – FAO Agricultural Officer, Deputy Head of the Standards Setting Unit of IPPC Secretariat, PhD in Biology

A.V. KOCHETOV – Director of FGBNU "Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS", Corresponding Member of the RAS, Professor of the RAS, Doctor of Advanced Studies in Biological Sciences

M.T. UPADYSHEV – Head of the Biotechnology and Plant Protection Department of FGBNU "All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology and Nursery", Corresponding Member of the RAS, Professor of the RAS, Doctor of Advanced Studies in Agricultural Sciences

M.V. PRIDANNIKOV – Deputy Director of the Center of Parasitology of A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS, PhD in Biology

N.V. ALEINIKOVA – Deputy Director for Scientific and Organizational Work of the FGBNU "Magarach" of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Advanced Studies in Agricultural Sciences

A.V. KHIUTTI – Head of the Group for Potato and Vegetable Crop Fungal, Viral, Mycoplasma and Nematode Diseases of FGBNU "VNIIZR", PhD in Biology

I.T. BALASHOVA – Chief Researcher of the Laboratory of New Technologies of FGBNU "Federal Scientific Center of Vegetable Growing", Doctor of Advanced Studies in Biological Sciences

F.S. DZHALILOV – Head of the Plant Protection Laboratory of the RSAU – MAA n. a. K.A. Timiryazev, Professor, Doctor of Advanced Studies in Biological Sciences

A.I. USKOV – Head of the Biotechnology and Immunodiagnosics Department of FGBNU "Lorch Potato Research Institute", Doctor of Advanced Studies in Agricultural Sciences

M.M. ABASOV – Head of the Commercial Department of FGBU "VNIICR", Doctor of Advanced Studies in Biological Sciences

K.P. KORNEV – Deputy Director of FGBU "VNIICR", PhD in Biology

O.B. DOBROVOLSKAYA – Deputy Director, FGBU "VNIICR", Doctor of Biology

YU.A. SHNEYDER – Head of Research and Methodology and Experimental Center, FGBU "VNIICR", PhD in Biology

S.G. ZINOVYEVA – PR specialist, Editorial and Publishing Department, FGBU "VNIICR"

EDITORSHIP

V.V. CHEREPANOVA – Copy Editor

G.N. BONDARENKO – Head of the Testing Laboratory Center of FGBU "VNIICR", PhD in Biology

E.M. VOLKOVA – Head of the Laboratory of Weed Plants of FGBU "VNIICR", PhD in Biology

L.G. CHEGLIK – Acting Head of the Biomethod Department of FGBU "VNIICR"

E.V. KARIMOVA – Head of the Scientific and Methodological Department of Virology and Bacteriology of the FGBU "VNIICR", PhD in Biology

O.A. KULINICH – Head of the Forest Quarantine Department of FGBU "VNIICR", Doctor of Advanced Studies in Biological Sciences

M.B. KOPINA – Head of the Research and Methodology Department for Mycology and Helminthology, PhD in Agriculture

S.A. KURBATOV – Head of the Entomological Research and Methodology Department of FGBU "VNIICR", PhD in Biology

S.V. SUDARIKOVA – Senior Researcher of the Helminthology Laboratory of the Testing Laboratory Center of FGBU "VNIICR"

V.S. KUCHERYAVYKH – Translator, PhD in Philology

Содержание | Content

АРЕАЛЫ КВО

Горчак ползучий: история расселения вида в Крыму и Поволжье

Ю.Ю. КУЛАКОВА, Ю.В. ОРЛОВА,
Т.З. ОМЕЛ'ЯНЕНКО, Д.А. КОМАРОВ, В.Г. КУЛАКОВ

AREAS OF QUARANTINE PESTS

***Acroptilon repens* (L.) DC.: the history of the species spreading in the Crimea and the Volga region**

YU.YU. KULAKOVA, YU.V. ORLOVA,
T.Z. OMELYANENKO, D.A. KOMAROV, V.G. KULAKOV

2

МОНИТОРИНГ

Чужеродные насекомые – фитофаги сельскохозяйственных, декоративных и лесных насаждений Крыма

Н.М. СТРЮКОВА, А.А. СТРЮКОВ

MONITORING

Alien insects – phytophages of agricultural, ornamental and forest plantations of the Crimea

N.M. STRYUKOVA, A.A. STRYUKOV

16

ДИАГНОСТИКА

Оценка применимости классических и молекулярных методов диагностики возбудителя *Bipolaris zeicola* (Stout) Shoemaker в лабораторных условиях

А.В. КАМЧЕНКОВ, Ю.В. ЦВЕТКОВА,
А.А. КУЗНЕЦОВА, И.П. ДУДЧЕНКО, Г.Р. УСМАНОВА

Evaluation of the applicability of classical and molecular methods for diagnosing the pathogen *Bipolaris zeicola* (Stout) Shoemaker in laboratory conditions

A.V. KAMCHENKOV, YU.V. TSVETKOVA,
A.A. KUZNETSOVA, I.P. DUDCHENKO, G.R. USMANOVA

33

Апробация метода ПЦР для видовой идентификации рисовой листовой нематоды *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942

А.В. ИВАНОВ, М.В. УШКОВА

Approbation of the PCR method for species identification of *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942

A.V. IVANOV, M.V. USHKOVA

46

ПОЛЕВЫЕ ИСПЫТАНИЯ

Испытания различных вариантов препаративной формы синтетического феромона зимней пяденицы *Operophtera brumata* (L.)

Н.Г. ТОДОРОВ, В.М. РАСТЕГАЕВА,
А.Э. НЕСТЕРЕНКОВА, В.Л. ПОНОМАРЕВ

FIELD TESTS

Testing of various options for the formulation of synthetic pheromone of *Operophtera brumata* (L.)

N.G. TODOROV, V.M. RASTEGAEVA,
A.E. NESTERENKOVA, V.L. PONOMAREV

57

НАШИ ЭКСПЕДИЦИИ

***Styx infernalis* Staudinger, 1876 (Lepidoptera, Riodinidae) – уникальная бабочка из Перу**

М.Г. КОВАЛЕНКО, Ю.А. ЛОВЦОВА,
Я.Н. КОВАЛЕНКО

OUR EXPEDITIONS

***Styx infernalis* Staudinger, 1876 (Lepidoptera, Riodinidae) – a unique butterfly from Peru**

M.G. KOVALENKO, J.A. LOVTSOVA,
YA.N. KOVALENKO

66

Журнал «Фитосанитария. Карантин растений» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор), свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77-76606 от 15 августа 2019 года
Фото на обложке: цветение горчачка ползучего (фото В.Г. Кулакова)
Дизайн и верстка: Мария Бондарь
Учредитель: ФГБУ «ВНИИКР», 140150, Московская область, г. Раменское, р. п. Быково, ул. Пограничная, д. 32

Издатель: ООО «Вейнард»
Телефон редакции: 8 (495) 925-06-34
Электронная почта: veinardltd@gmail.com
Индексы издания для подписки в каталогах:
АО «Агентство «Роспечать» – 81075
ООО «Агентство Книга-Сервис» – 33095
Отпечатано в типографии
ООО «Полиграфический комплекс»
123298, г. Москва, ул. 3-я Хорошевская, дом 18, корпус 1
Тираж 3000 экз.
Подписано в печать: 15.11.2022
Дата выхода в свет: 01.12.2022

The Journal "Plant Health and Quarantine" is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor), Registration Certificate No. FS 77-76606, August 15, 2019
Photo on the cover: blossom of Russian knapweed (photo by V.G. Kulakov)
Design & Composition: Mariya Bondar
Establisher: FGBU VNIICR, 140150, Moskovskaya oblast, Ramenskoye, r. p. Bykovo, Pogranichnaya ulitsa, 32

Publisher: ООО "Veynard"
Editorial Board Office:
Tel: +7 (495) 925-06-34
E-mail: veinardltd@gmail.com
Subscription indexes:
АО Агентство "Rospechat" – 81075
ООО Агентство "Kniga-Servis" – 33095
Printing house:
ООО "Poligrafichesky kompleks",
123298, ul. 3-ya Khoroshevskaya, 18, build. 1
Circulation: 3000 copies
Approved for print: 15/11/2022
Issue date: 01/12/2022

Горчак ползучий: история расселения вида в Крыму и Поволжье

Ю.Ю. КУЛАКОВА¹, Ю.В. ОРЛОВА²,
Т.З. ОМЕЛЯНЕНКО³, Д.А. КОМАРОВ⁴,
В.Г. КУЛАКОВ⁵

^{1,2,5} ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия

³ Южный филиал ФГБУ «ВНИИКР», г. Симферополь, Россия

⁴ Волгоградский филиал ФГБУ «ВНИИКР», г. Волгоград, Россия

¹ ORCID 0000-0002-9973-7584, e-mail: thymus73@mail.ru

² ORCID 0000-0002-3330-6976, e-mail: orl-jul@mail.ru

³ ORCID 0000-0003-2200-8591, e-mail: o.tanya-work@yandex.ru

⁴ ORCID 0000-0002-2640-2257, e-mail: komarov_da1974@mail.ru

⁵ ORCID 0000-0002-7090-3139, e-mail: vitaliyk2575@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Горчак ползучий – сеgetальный сорняк, засоряющий посевы различных сельскохозяйственных культур (<http://www.agroatlas.ru>). Включен в самый первый карантинный перечень СССР в 1938 г. Наиболее ранние обнаружения в России известны на территории Нижне-Волжского края (Серегин, 2022). С развитием сельского хозяйства на Средней и Нижней Волге, Северном Кавказе и Урале, увеличением доли пахотных земель, расширением грузопотока из стран Средней и Центральной Азии горчак начал продвигаться на новые территории в северном и западном направлениях. Одним из путей распространения сорняка были засоренные партии люцерны среднеазиатского происхождения (Москаленко, 2001). С первой половины XX века горчак становится ощутимой проблемой при ведении сельскохозяйственного производства на юге России (Мальцев, 1932; Никитин, 1983). В советский период проводится крупномасштабная работа по искоренению сорняка, которая в итоге не привела к реальному успеху из-за отсутствия эффективных химических средств защиты посевов. Тотальная распашка целинных степей и засоленных почв в зоне аридного земледелия привела к еще большему развитию сорняка в агроценозах. К 1967 г. общая площадь земель под горчаком составляла 2,1 млн га (Отчет ЦКЛ МСХ СССР, 1968). Особенно тревожное положение сложилось в Волгоградской области, где практически половина всех пахотных земель была засорена горчаком. В настоящее время горчак встречается на территории 18 субъектов Российской Федерации на общей площади почти 1,3 млн га. Анализ фитосанитарного состояния исследуемой территории за последние 80 лет показал стабильно

Acroptilon repens (L.) DC.: the history of the species spreading in the Crimea and the Volga region

YU.YU. KULAKOVA¹, YU.V. ORLOVA²,
T.Z. OMELIANENKO³, D.A. KOMAROV⁴,
V.G. KULAKOV⁵

^{1,2,5} FGBU “All-Russian Plant Quarantine Center” (FGBU “VNI IKR”), Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia

³ Southern Branch of FGBU “VNI IKR”, Simferopol, Russia

⁴ Volgograd Branch of FGBU “VNI IKR”, Volgograd, Russia

¹ ORCID 0000-0002-9973-7584, e-mail: thymus73@mail.ru

² ORCID 0000-0002-3330-6976, e-mail: orl-jul@mail.ru

³ ORCID 0000-0003-2200-8591, e-mail: o.tanya-work@yandex.ru

⁴ ORCID 0000-0002-2640-2257, e-mail: komarov_da1974@mail.ru

⁵ ORCID 0000-0002-7090-3139, e-mail: vitaliyk2575@mail.ru

ABSTRACT

Russian knapweed (*Acroptilon repens* DC.) is a segetal weed contaminating crops of various agricultural crops (<http://www.agroatlas.ru>). Included in the first quarantine list of the USSR in 1938. The earliest detections in Russia are known on the territory of the Lower Volga Territory (Seregin, 2022). With the development of agriculture in the Middle and Lower Volga, the North Caucasus and the Urals, an increase in the share of arable land, and the expansion of cargo traffic from the countries of Central and Central Asia, the Russian knapweed began to move to new territories in the northern and western directions. One of the ways of spreading the weed was contaminated batches of alfalfa of Central Asian origin (Moskalenko, 2001). Since the first half of the 20th century Russian knapweed has become a significant problem in agricultural production in southern Russia (Maltsev, 1932; Nikitin, 1983). During the Soviet period, large-scale work is carried out to eradicate the weed, which in the end did not lead to real success due to the lack of effective chemical means of crop protection. The total plowing of virgin steppes and saline soils in the zone of arid agriculture led to an even greater development of the weed in agrocenoses. By 1967, the total area of land under Russian knapweed was 2.1 million hectares (Report of the Central Committee of the Ministry of Agriculture of the USSR, 1968). A particularly alarming situation has developed in Volgograd Oblast, where almost half of all arable land was contaminated with Russian knapweed. At present, it occurs on the territory of 18 constituent entities of the Russian Federation on a total area of almost 1.3 million hectares. An analysis of the phytosanitary state of the

негативную ситуацию. Однако в последние годы отмечены видимые тенденции в сторону ликвидации существующих очагов и упразднения фитосанитарных зон в большинстве зараженных им регионов (Яковлева, 2022).

Ключевые слова. *Rhaponticum repens*, *Acroptilon repens*, горчак ползучий, фитосанитарные меры, карантинный объект.

ВВЕДЕНИЕ

Горчак ползучий (*Rhaponticum repens* (L.) Hidalgo = *Acroptilon repens* (L.) DC., russian knapweed) – корнеотпрысковый сорняк среднеазиатского происхождения, относящийся к семейству Астровые, который за последние 150 лет плотно оккупировал сельскохозяйственные угодья юга России. По степени вредоносности он самый злостный и трудноискоренимый среди корнеотпрысковых сорняков (Мальцев, 1932; Никитин, 1983; Чебановская, Могилюк, 2015). Наиболее точную характеристику сорняку дал академик А.И. Мальцев: «Ни острец, ни свинорой, ни кашка и другие не могут устоять против наступления горчачка. Он гораздо сильнее даже осотов, с которыми сходен по типу мощной и крепкой корневой системы. Но горчак резко отличается тем, что он совершенно не боится не только уплотнения, но и засоления почвы, абсолютно засухоустойчив».

Благодаря своей невероятной устойчивости он может десятилетиями оставаться на одних и тех же землях, не снижая численности. Такая жизнестойкость растения связана с особенностями строения корневой системы, представляющей систему вертикальных корневищ и горизонтальных корневых побегов. На корневищах формируется большое число спящих почек, из которых легко образуются новые молодые побеги. По данным М.С. Раскина (1968), при средней плотности засорения 180 побегов на м² общая длина корней в слое почвы 0–80 см на 1 га равна 23 830 км. Основная масса корней находится в почве глубиной до 40 см (рис. 1).

Вертикальные корни могут проникать на глубину до 10 м, накапливая инулин, и сохраняют жизнеспособность без притока продуктов фотосинтеза в течение 3 лет (Сафра, 1962; Хандусенко, 1983). В результате горчак способен возобновляться через несколько лет, несмотря на видимое отсутствие надземных побегов в предыдущие годы (Сулима, 1959; Карантинные сорняки и борьба с ними, 1970).

Растение крайне ядовито для лошадей, в то время как коровы, овцы и верблюды не так страдают при поедании его травы (Котт, 1953; Maddox et al., 1985). У отравленных животных сначала проявляются признаки возбуждения, колики, а через 2–3 часа возникает беспорядочное движение губами и угнетенное состояние. Присутствие семян горчачка в муке вызывает горечь (Иванова, 1966). Как сеgetальный сорняк, горчак сильно подавляет рост других растений, выделяя в почву вещества,

study area over the past 80 years has shown a consistently negative situation. However, in recent years, visible trends have been noted towards the elimination of existing outbreaks and the abolition of phytosanitary zones in most regions infected by it (Yakovleva, 2022).

Key words. *Rhaponticum repens*, *Acroptilon repens*, Russian knapweed, phytosanitary measures, quarantine object.

INTRODUCTION

Russian knapweed (*Rhaponticum repens* (L.) Hidalgo = *Acroptilon repens* (L.) DC., Russian knapweed) is a root weed of Central Asian origin, belonging to the Asteraceae family, which has densely occupied agricultural land in southern Russia over the past 150 years. According to the degree of harmfulness, it is the most malicious and difficult to eradicate among root weeds (Maltsev, 1932; Nikitin, 1983; Chebanovskaya and Mogilyuk, 2015). The most accurate description of the weed was given by Academician A.I. Maltsev: “Neither sedge, nor couch grass, nor the porridge and others can resist Russian knapweed. It is much stronger even than sow thistles, with which it is similar in type to a powerful and strong root system. But Russian knapweed differs sharply in that it is not at all afraid of not only compaction, but also salinization of the soil, it is absolutely drought-resistant”.

Due to its incredible resilience, it can remain on the same lands for decades without reducing its numbers. Such vitality of the plant is associated with the structural features of the root system, which is a system of vertical rhizomes and horizontal root shoots. A large

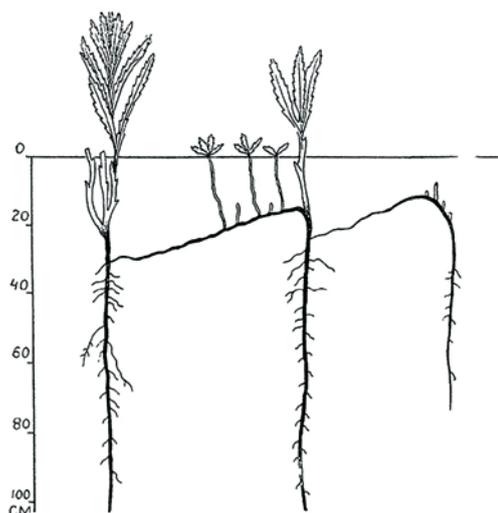


Рис. 1. Корневая система *Acroptilon repens* (L.) DC. (по Г. Высоцкому, из книги А.И. Мальцева «Сорная растительность СССР». – М.: Сельхозгиз, 1932)

Fig. 1. Root system of *Acroptilon repens* (L.) DC. (according to G. Vysotsky, from the book of A.I. Maltsev “Weeds of the USSR”. – M.: Selkhozgiz, 1932)

родственные полиацетилену и оказывающие аллелопатическое действие, что позволяет сорняку быстро колонизировать новые территории (Watson, 1980). В местах произрастания он формирует плотные монодоминантные заросли, оплетая корнями другие растения, иссушает почву. При сильном засорении было зарегистрировано от 100 до 300 побегов на 1 м² (Watson, 1980).

Горчак ползучий является карантинным объектом для Азербайджана, Бразилии, Грузии, Египта, Израиля, Иордании, Республики Молдовы, Чили, Китайской Народной Республики, Узбекистана. Входит в списки регулируемых чужеродных видов стран Европейской и Средиземноморской организации по карантину и защите растений (ЕОКЗР), включен в национальный список чужеродных видов Эстонии (<https://gd.eppo.int>). Интерес к горчаку появился снова на фоне выполнения фитосанитарных требований стран – импортеров российского зерна и выявления свободных фитосанитарных зон.

В обзоре были проанализированы данные по расселению горчака с середины XIX века до наших дней в южных регионах России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были изучены отечественные флористические сводки, фитосанитарные справочники, отчеты пограничных госинспекций разных лет, гербарные базы данных; проанализированы результаты собственных полевых исследований.

ОБЗОРНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Таксономический статус

Впервые это растение описал Карл Линней, который из-за сходства внешнего облика отнес его к василькам, присвоив название *Centaurea repens* L. (Linnaeus, 1763). В 1838 г. Огюстен Декандоль перенес его в род *Acroptilon*, который к тому моменту выделил Александр Анри Габриель де Кассини (de Candolle, 1837; Cassini, 1827). В дальнейшем Карл фон Гофман (Hoffman, 1897) изменил таксономическое положение этого рода, вернув его в состав рода *Centaurea* s. l. в качестве самостоятельной секции. Петр Симон Паллас описал горчак как *Centaurea picris* по сборам с Прикаспия (Willdenow, 1803). В период с начала XIX по XX век в ботанической литературе фигурируют различные варианты в названии этого вида (*Centaurea repens*, *Centaurea picris*, *Serratula picris*, *Acroptilon picris* и др.), что говорит о неустойчивости таксономического статуса последнего. В XXI веке возобновились исследования по этому виду и было показано его обособленное положение от рода *Centaurea*. Проведенные в 2006 г. молекулярно-филогенетические исследования подтвердили родственность его представителей с родом *Rhaphonticum* (Hidalgo et al., 2006). Поэтому в современной ботанической литературе появилась следующая комбинация: *Rhaphonticum repens* (L.) Hidalgo. Ряд исследователей, проведя номенклатурную ревизию, считают приоритетным в отношении этого таксона комбинацию *Leuzea repens* (L.) D.J.N. Hind (Hind, 2019). Однако современные представления о таксономии и номенклатуре вида все же еще не укрепились в достаточной мере и полностью не заменили привычное название *Acroptilon repens* (L.) DC. (рис. 2).

number of dormant buds are formed on the rhizomes, from which new young shoots are easily formed. According to M.S. Raskin (1968), with an average weed density of 180 shoots per m², the total length of roots in a soil layer of 0–80 cm per 1 ha is 23,830 km. The bulk of the roots are in the soil up to 40 cm deep (Fig. 1).

Vertical roots can penetrate to a depth of up to 10 m, accumulating inulin, and remain viable without the influx of photosynthesis products for 3 years (Safra, 1962; Khandusenko, 1983). As a result, Russian knapweed is able to regenerate after several years, despite the apparent absence of above-ground shoots in previous years (Sulima, 1959; Quarantine weeds and their control, 1970).

The plant is extremely poisonous to horses, while cows, sheep and camels are less affected by eating its grass (Kott, 1953; Maddox et al., 1985). Poisoned animals first show signs of agitation, colic, and after 2–3 hours there is a disorderly movement of the lips and a depressed state. The presence of Russian knapweed seeds in flour causes bitterness (Ivanova, 1966). As a segetal weed, Russian knapweed strongly inhibits the growth of other plants, releasing into the soil substances related to polyacetylene and having an allelopathic effect, which allows the weed to quickly colonize new territories (Watson, 1980). In places of growth, it forms dense monodominant thickets, braiding other plants with roots, and dries up the soil. With severe contamination, from 100 to 300 shoots were recorded per 1 m² (Watson, 1980).

Russian knapweed is a quarantine object for Azerbaijan, Brazil, Georgia, Egypt, Israel, Jordan, Republic of Moldova, Chile, People's Republic of China, Uzbekistan. Included in the lists of regulated alien species of



Рис. 2. Цветущее растение горчака ползучего (фото авторов)

Fig. 2. A flowering Russian knapweed plant (photo by the authors)

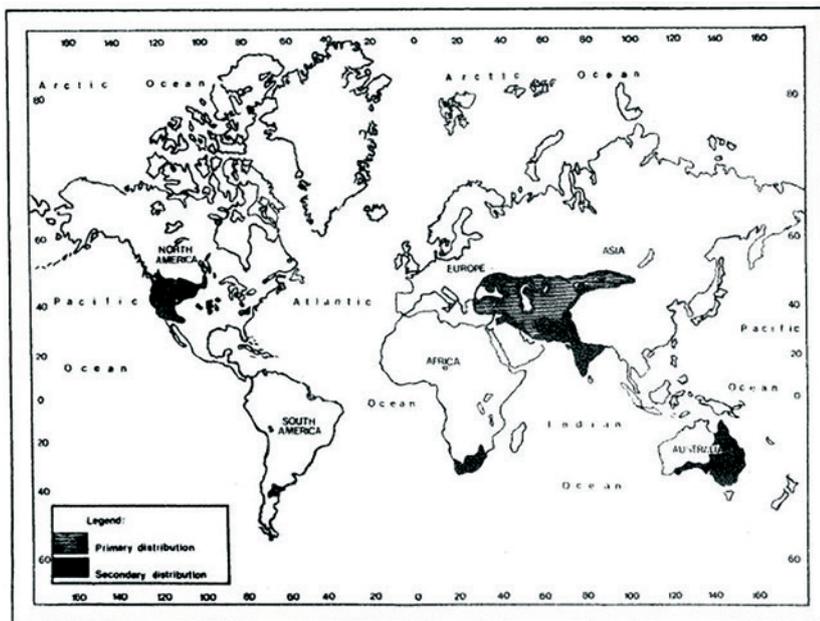


Рис. 3. Распространение горчак ползучего в мире в 1985 г. (Maddox D., Mayfield A. & Poritz N., 1985. Distribution of Yellow Starthistle (*Centaurea solstitialis*) and Russian Knapweed (*Centaurea repens*). – *Weed Sci.*, 33 (3): 315–327)

Fig. 3. Distribution of Russian knapweed in the world in 1985 (Maddox D., Mayfield A. & Poritz N., 1985. Distribution of Yellow Starthistle (*Centaurea solstitialis*) and Russian Knapweed (*Centaurea repens*). – *Weed Sci.*, 33 (3): 315–327)

История расселения сорняка

Горчак ползучий – евразийский пустынно-степной вид среднеазиатского происхождения (Протопопова, 1991). Ареал вида простирается от Малой Азии по регионам Центральной Евразии до Джунгарской равнины. Наибольшее распространение отмечается в Турции, Казахстане, Киргизии, Туркмении, Узбекистане, Иране, Ираке, Афганистане и Западном Китае (Holm et al., 1991; USDA-ARS, 2003). На этом пространстве сорняк встречается как в естественных ценозах (на низких солонцевато-глинистых местах, в солончаковых степях, вблизи водоемов), так и в нарушенных местообитаниях (на посевах, пастбищах, в садах, виноградниках, на обочинах дорог). В Европе за пределами России горчак встречается крайне редко на территории Германии и Польши, значительные площади он занимает в южных регионах Украины.

На территорию Северной Америки горчак попал предположительно в начале 1890-х годов с семенами люцерны из Туркестана, что, вероятно, повлияло на местное название растения – *russian knapweed*, или «русский василек» (<https://www.cabi.org/crc>). Сорняк стал быстро распространяться по западным районам США и центральным частям Канады, что вызвало серьезную угрозу земледелию и скотоводству этих земель (Reed, 1977; Maddox et al., 1985; Moore, 1972; Frankton, Mulligan, 1993; Quattrocchi, 2000; USDA, 2015). В начале XX века горчак вновь проник в Европу – по-видимому, с американским зерном в составе партий хлебных злаков.

В настоящее время вид зарегистрирован на территории следующих стран: Афганистана, Армении, Китая (восточная часть), Грузии (северная часть), Индии, Ирака, Ирана, Казахстана, Киргизии, Монголии, Сирии, Таджикистана, Турции,

the countries of the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO), included in the national list of alien species of Estonia (<https://gd.eppo.int>). Interest in Russian knapweed appeared again against the background of the fulfillment of the phytosanitary requirements of the countries importing Russian grain and the identification of free phytosanitary zones.

The review analyzed data on the settlement of Russian knapweed from the middle of the 19th century to the present day in the southern regions of Russia.

MATERIALS AND METHODS

There were studied Russian floristic reports, phytosanitary reference books, reports of border state inspections of different years, herbarium databases were studied; the results of our own field research were analyzed.

OVERVIEW

Taxonomy

For the first time, this plant was described by Carl Linnaeus, who, due to the similarity in appearance, attributed

it to cornflowers, giving it the name *Centaurea repens* L. (Linnaeus, 1763). In 1838, Augustin Decandol transferred it to the genus *Acroptilon*, which by that time had been singled out by Alexandre Henri Gabriel de Cassini (de Candolle, 1837; Cassini, 1827). Later, Karl von Hoffman (Hoffman, 1897) changed the taxonomic position of this genus, returning it to the genus *Centaurea* s. l. an independent section. Peter Simon Pallas described Russian knapweed as *Centaurea picris* based on collections from the Caspian Sea (Willdenow, 1803). In the period from the beginning of the 19th to the 20th century, various options appear in the name of this species in the botanical literature (*Centaurea repens*, *Centaurea picris*, *Serratula picris*, *Acroptilon picris*, etc.), which indicates the instability of the taxonomic status of the latter. In the 21st century, research on this species was resumed and its isolated position from the genus *Centaurea* was shown. Molecular phylogenetic studies conducted in 2006 confirmed the relationship of its representatives with the genus *Rhaponticum* (Hidalgo et al., 2006). Therefore, the following combination appeared in modern botanical literature: *Rhaponticum repens* (L.) Hidalgo. Some researchers, having carried out a nomenclatural revision, consider the combination *Leuzea repens* (L.) D.J.N. Hind (Hind, 2019). However, modern ideas about the taxonomy and nomenclature of the species have not yet been sufficiently strengthened and have not completely replaced the usual name *Acroptilon repens* (L.) DC. (Fig. 2).

Weed spreading history

Russian knapweed is Eurasian desert-steppe species of Central Asian origin (Protopopova, 1991). The range of the species extends from Asia Minor through

Туркмении, Узбекистана, Канады (в основном это провинции Альберта, Манитоба, Саскачеван, Британская Колумбия, Онтарио), Аргентины, Тринидада, Австралии, Южно-Африканской Республики, в 21 штате США (<https://www.gbif.org/species/3142214>) (рис. 3).

Достоверные доказательства присутствия горчака на территории Российской империи дают нам сборы, хранящиеся в Гербарии МГУ. Сохранились образцы с территории Нижне-Волжского края, датируемые 1817 г. Позже в труде «Флора средней и южной России, Крыма и Северного Кавказа» (1897) И. Шмальгаузен указывал этот вид в широком географическом охвате – Херсон, Сарепта (ныне близ г. Волгограда), Астрахань, Уральск, Крым (Судак, Феодосия), Кавказ (Ставрополье при реке Куме), Дагестан, Закавказье – как растение, заселяющее солончаковые степи и холмы юго-востока России.

В 5-м издании «Флоры средней России» (Маевский, 1917) вид приводился исключительно по солончакам Саратовского уезда; а во «Флоре юго-востока...» (1936) он указывался по солончаковым лугам, на солонцеватых залежах, а также в посевах как сорное растение: для Саратова, Ергеней, Уральска и Оренбурга.

В 1932 г. горчак часто упоминался в агрономической литературе как засоритель посевов злаков для территории Украины, Крыма, Нижне-Волжского и Северо-Кавказского краев, Дагестана (Леньков, 1932). Несмотря на предпринимаемые меры борьбы, его площади постепенно увеличивались. К 1936 г. северная граница его распространения проходила от Херсона на Днепропетровск – Мариуполь – Новочеркасск – Сталинград – Саратов – Пугачев и далее на восток до Уральска – Оренбурга, а также по северо-западной части Казахстана до Иртыша (Мальцев, 1937; Сорные растения СССР, 1935) (рис. 4).

В 1938 г. горчак был включен в самый первый карантинный перечень СССР и признан крайне вредоносным растением, наряду с амброзией полыннолистной и повиликой полевой (Абрамова и др., 2020). Агрономы отмечали, что горчак засоряет все злаковые и технические культуры, пропашные культуры, сады, виноградники.

Не стоит забывать, что привнесению чужеродных видов также способствовали военные действия в разные периоды XX века и крупномасштабные межконтинентальные переброски продовольственных грузов между разными государствами (Кот, 1953). После окончания Великой Отечественной войны горчак периодически обнаруживался в составе завозимых из других стран партий семенного и продовольственного материалов, направляемых в качестве гуманитарных грузов.

Распространению сорняка также благоприятствовало перемещение партий зерна между российскими регионами. Известно, что семена горчака становятся практически зрелыми к периоду уборки озимых зерновых культур (первая половина июля). Поэтому партии продовольственного и фуражного зерна являются одним из главных путей его распространения.

В итоге к 1967 г. на территории государств бывшего Советского Союза горчак занимал площадь 2,1 млн га, большая часть которой использовалась

the regions of Central Eurasia to the Dzungarian Plain. The greatest distribution is noted in Turkey, Kazakhstan, Kyrgyzstan, Turkmenistan, Uzbekistan, Iran, Iraq, Afghanistan and Western China (Holm et al., 1991; USDA-ARS, 2003). In this space, the weed occurs both in natural cenoses (in low saline-clay places, in saline steppes, near water bodies), and in disturbed habitats (on crops, pastures, in gardens, vineyards, on roadsides). In Europe, outside of Russia, Russian knapweed is extremely rare in Germany and Poland; it occupies significant areas in the southern regions of Ukraine.

It supposedly came to the territory of North America in the early 1890s with alfalfa seeds from Turkestan, which probably influenced the local name of the plant – Russian knapweed (<https://www.cabi.org/cpc>). The weed began to spread rapidly throughout the western regions of the United States and the central parts of Canada, which caused a serious threat to agriculture and pastoralism in these lands (Reed, 1977; Maddox et al., 1985; Moore, 1972; Frankton and Mulligan, 1993; Quattrocchi, 2000; USDA, 2015). At the beginning of the 20th century, Russian knapweed re-entered Europe, apparently with American grain as part of cereal shipments.

Currently, the species has been registered in the following countries: Afghanistan, Armenia, China (eastern part), Georgia (northern part), India, Iraq, Iran, Kazakhstan, Kyrgyzstan, Mongolia, Syria, Tajikistan, Turkey, Turkmenistan, Uzbekistan, Canada (these are mainly the provinces of Alberta, Manitoba, Saskatchewan, British Columbia, Ontario), Argentina, Trinidad, Australia, South Africa, in 21 US states (<https://www.gbif.org/species/3142214>) (Fig. 3).

Reliable evidence of the presence of Russian knapweed on the territory of the Russian Empire is given to us by collections stored in the Herbarium of Moscow State University. Samples from the territory of the Lower Volga Territory, dating back to 1817, have been preserved. Later, in the work “Flora of Central and Southern Russia, the Crimea and the North Caucasus” (1897), I. Schmalhausen indicated this species in a wide geographical scope – Kherson, Sarepta (now near the city of Volgograd), Astrakhan, Uralsk, Crimea (Sudak, Feodosia), Caucasus (Stavropol region near the Kum River), Dagestan, Transcaucasia – as a plant that inhabits the solonchak steppes and hills of southeast Russia.

In the 5th edition of “Flora of Central Russia” (Maevsky, 1917), the species was cited exclusively from the solonchaks of the Saratov district; and in the “Flora of the South-East...” (1936) it was indicated in saline meadows, on solonchak deposits, as well as in crops as a weed plant: for Saratov, Ergeni, Uralsk and Orenburg.

In 1932, Russian knapweed was often mentioned in agronomic literature as a weed of cereal crops for the territory of Ukraine, Crimea, the Lower Volga and North Caucasian regions, and Dagestan (Lenkov, 1932). Despite the measures taken to control, its area gradually increased. By 1936, the northern border of its distribution ran from Kherson to Dnepropetrovsk – Mariupol – Novocherkassk – Stalingrad – Saratov – Pugachev and further east to Uralsk – Orenburg and along the north-western part of Kazakhstan to the Irtysh (Maltsev, 1937; Weeds of the USSR, 1935) (Fig. 4).

как пашня. В ряде регионов проводили усиленную борьбу с этим сорняком, использовали препараты на основе трихлорбензойной кислоты («2-КФ», «Трисбен-200»). Но, несмотря на предпринимаемые колоссальные усилия, эффективность этих мер была недостаточной.

Проследим ситуацию по отдельным регионам страны.

Крым. Горчак был известен в Крыму еще со времен Российской империи, вероятно, на рубеже XVIII–XIX веков, о чем свидетельствуют гербарные сборы М.М. Ильина, Ф.И. Бертольди, хранящиеся в Гербарии МГУ (Серегин, 2022). Ф.К. Биберштейн указывал его для Крыма и Кавказа по пустошам и реже на «окультуренных землях», отмечая, что население использовало его траву против лихорадки (Bieberstein, 1819). И.И. Шмальгаузен также приводил его во «Флоре средней и южной России, Крыма и Северного Кавказа» для Судака и Феодосии на солончаковых степях (1897).

На протяжении всего XIX века ботаники, посетившие Крым, обращали внимание на горчак, подтверждая свои находки образцами. Исследователь флоры Крыма В.И. Талиев, анализируя «пришлую флору» Крыма, высказывал мысль о тесной связи между составом флоры и исторической жизнью общества, подчеркивая, что значительное число крымских видов могло быть привнесено на полуостров в более ранние эпохи (Талиев, 1900). Он описывал горчак на местообитаниях, близких к морю, на низких солонцевато-глинистых холмах, где собирается настоящая солончаковая флора.

Одним из более поздних путей проникновения вида в Крым мог быть завоз семян люцерны, которую с 1830 г. начали активно возделывать в условиях засушливого степного земледелия полуострова. Засоренность люцерны семенами сорняков в то время была очевидной, а зерноочистительной

In 1938, Russian knapweed was included in the very first quarantine list of the USSR and recognized as an extremely harmful plant, along with ragweed and field dodder (Abramova et al., 2020). Agronomists noted that Russian knapweed infests all cereal and industrial crops, tilled crops, orchards, vineyards.

It should be borne in mind that in different periods of the 20th century and large-scale intercontinental transfers of food cargo between different states also contributed to the introduction of alien species (Kott, 1953). After the end of the Great Patriotic War, Russian knapweed was periodically detected in the composition of consignments of seed and food materials imported from other countries, sent as humanitarian cargo.

The spread of the weed was also favored by the movement of consignments of grain between Russian regions. It is known that achenes of Russian knapweed become practically mature by the time of harvesting winter grain crops (the first half of July). Therefore, batches of food and feed grains are one of the main pathways.

As a result, by 1967, on the territory of the states of the former Soviet Union, Russian knapweed occupied an area of 2.1 million hectares, most of which was used as arable land. In some regions, an intensive control of this weed was carried out, preparations based on trichlorobenzoic acid (2-KF, Trisben-200) were used. But, despite the colossal efforts made, the effectiveness of these measures was insufficient.

Let's track the situation in individual regions of the country.

Crimea. Russian knapweed has been known in the Crimea since the time of the Russian Empire, probably at the turn of the 18th–19th centuries, as evidenced by the herbarium collections of M.M. Ilyin, F.I. Bertholdi stored in the Herbarium of Moscow State University (Seregin, 2022). F.K. Bieberstein indicated it for the Crimea and the Caucasus in the wastelands and less

often in “cultivated lands”, noting that the population used its herb against fever (Bieberstein, 1819). I.I. Schmalhausen also cited it in the “Flora of Central and Southern Russia, the Crimea and the North Caucasus” for Sudak and Feodosia on the solonchak steppes (1897).

Throughout the 19th century, botanists who visited the Crimea paid attention to Russian knapweed, confirming their detections with samples. Crimean flora researcher V.I. Taliev, analyzing the “alien flora” of the Crimea, expressed the idea of a close relationship between the composition of the flora and the historical life of society, emphasizing that a significant number of Crimean species could have been introduced to the peninsula in earlier eras (Taliev, 1900). He described Russian knapweed in habitats close to the sea, on low saline-clay hills, where real solonchak flora gathers.

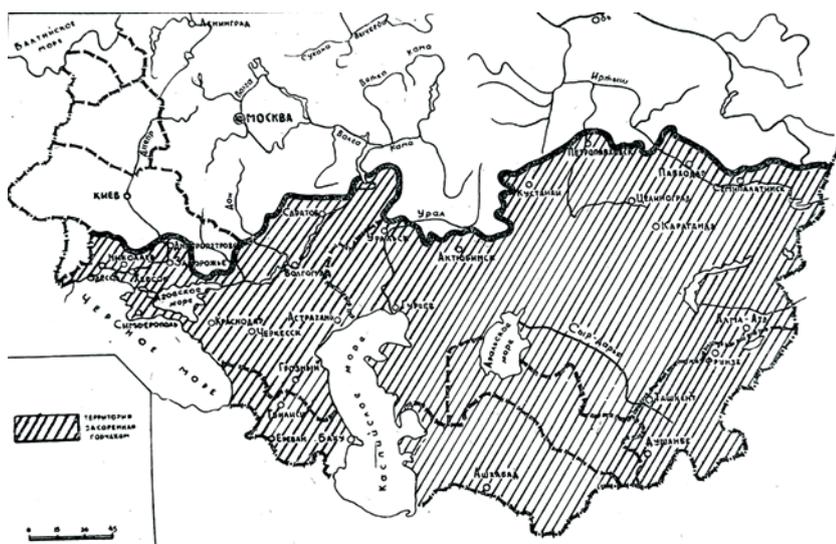


Рис. 4. Распространение горчака ползучего в СССР в 1936 г. (Определитель карантинных сорняков, 1936)

Fig. 4. Distribution of Russian knapweed in the USSR in 1936 (Key to quarantine weeds, 1936)

техники явно не хватало (Броувер, Штелин, 2010). Судя по аграрным документам, в дореволюционное время горчак нечасто встречался на полях Крыма. Начиная с 1930-х гг. горчак стал проявлять себя как сеgetальный сорняк, засоряя поля зерновых и пропашных культур. Проблему усугубляло крайне низкое представление о биологии сорняка и недостаточная эффективность химических методов защиты растений того времени.

Годы немецко-фашистской оккупации сильно отразились на сельском хозяйстве Крыма: его производственная база оказалась подорванной, севообороты – нарушенными, поля – засоренными злостными сорняками. По данным Выдрина, ежегодный недобор урожая озимых культур в Крыму составлял 4–5 млн пудов зерна (Горчак и борьба с ним, 1972). Исследуя причины резкого снижения урожая, а подчас и гибели посевов, многие объясняли это присутствием горчака. К 1969 г. широкое распространение горчака по полуострову единогласно отмечали ботаники и агрономы (Вульф, 1969).

По данным Пограничной госинспекции по карантину растений Министерства сельского хозяйства СССР за 1968 г., горчак был распространен уже в 14 районах, 5 городах, 224 хозяйствах Крымской области. Общая площадь очагов составила 102 562,6 га. Наибольшее засорение наблюдалось в северных, восточных и отчасти юго-восточных частях региона.

Начиная с 1968 и по 1980 г. велась интенсивная борьба с горчаком, что способствовало снижению площади засорения. Уже к 1980 г. площадь под горчаком составляла 69 683 га (из них пашня – 58 939 га, выгон – 7 921,8 га, виноградники – 744,6 га, сады – 244,6 га, вдоль дорог – 856,6 га, личные хозяйства – 333 га). За период с 1999 по 2014 г. ситуация стабилизировалась, площадь практически не менялась (Обзор распространения, 1999). С 2015 г. Южным межрегиональным управлением Россельхознадзора проводится пересмотр площадей земель, засоренных горчаком в Крыму.

Современные ботанические исследования по изучению адвентивной фракции флоры Крымского полуострова показывают, что ее состав существенно менялся во времени вследствие постоянного заноса новых видов растений. При этом горчак рассматривается как археофит, был занесен до начала XIX века, т. е. до первых флористических сводок по этой территории (Багрикова, 2013а; Багрикова, 2013б).

Среднее и Нижнее Поволжье. На протяжении многих веков южные и юго-восточные территории России (окраинные земли) служили зоной кочевого и полукочевого скотоводства. Эти земли населяли различные народы и племена, оставляя свой социокультурный след и неповторимые традиции ведения хозяйствования. Богатейшая природа этого края привлекала внимание многочисленных естествоиспытателей.

С начала XVIII века указанные территории активно посещаются ботаниками в ходе знаменитых академических экспедиций (П.С. Палласа, С.Г. Гмелина, И.А. Гильденштедта, И.И. Лепехина и др.) (Сытин, 2019).

В работе немецкого химика и ботаника Карла Клауса *Flora der Wolgagegenden* (1851),

One of the later pathways of the species into the Crimea could be the importation of seeds of alfalfa, which began to be actively cultivated in 1830 under the conditions of arid steppe agriculture of the peninsula. The infestation of alfalfa with weed seeds at that time was obvious, and grain cleaning equipment was clearly not enough (Brover, Shtelin, 2010). Judging by the agrarian documents, in pre-revolutionary times, Russian knapweed was not often detected on the fields of Crimea. Since the 1930s Russian knapweed began to manifest itself as a segetal weed, littering the fields of grain and row crops. The problem was exacerbated by the extremely low understanding of weed biology and the insufficient effectiveness of chemical methods of plant protection of that time.

The years of Nazi occupation had a strong impact on the agriculture of Crimea: its production base was undermined, crop rotations were disrupted, fields were littered with weeds. According to Vydrin, the annual shortfall in the harvest of winter crops in the Crimea was 4–5 million poods of grain (Russian knapweed and its control, 1972). Investigating the reasons for the sharp decline in yield, and sometimes the death of crops, many explained this by the presence of Russian knapweed. By 1969, botanists and agronomists unanimously noted the wide distribution of Russian knapweed throughout the peninsula (Vulf, 1969).

According to the data of the Border State Inspectorate for Plant Quarantine of the Ministry of Agriculture of the USSR for 1968, Russian knapweed was already distributed in 14 districts, 5 cities, 224 farms of Crimea Oblast. The total area of outbreaks was 102 562.6 ha. The greatest contamination was observed in the northern, eastern and partly southeastern parts of the region.

From 1968 to 1980, an intensive control of Russian knapweed was carried out, which contributed to a decrease in the area of contamination. As early as 1980, the area under Russian knapweed was 69 683 hectares (of which arable land – 58 939 hectares, pasture – 7 921.8 hectares, vineyards – 744.6 hectares, orchards – 244.6 hectares, along roads – 856.6 hectares, personal farms – 333 hectares). Over the period from 1999 to 2014, the situation stabilized, and the area practically did not change (Distribution Survey, 1999). Since 2015, the Southern Interregional Directorate of Rosselkhoz nadzor has been reviewing the areas of land contaminated with Russian knapweed in Crimea.

Modern botanical studies on the study of the adventitious fraction of the flora of the Crimean Peninsula show that its composition has changed significantly over time due to the constant introduction of new plant species. At the same time, of Russian knapweed is considered as an archeophyte; it was introduced before the beginning of the 19th century, i. e., before the first floristic reports on this territory (Bagrikova, 2013a; Bagrikova, 2013b).

Middle and Lower Volga Regions. For many centuries, the southern and southeastern territories of Russia (outlying lands) served as a zone of nomadic and semi-nomadic cattle breeding. These lands were inhabited by various peoples and tribes, leaving their socio-cultural trace and unique traditions of managing.

описывающей ботанические исследования степей между реками Урал и Волгой, проведенные в 1827 г. под руководством профессора Э.Ф. Эверсмана, уже упоминается горчак, который был обнаружен в окрестностях немецкой колонии Сарепты. Ботаник и энтомолог Александр Беккер, родившийся в Сарепте и посвятивший свою жизнь изучению нижеволжской природы, также указывает этот вид в балках у Волги и по глинистым степям (Becker, 1858). Из всего этого понятно, что горчак уже тогда входил в состав полустественных растительных сообществ, приуроченных к эрозионно-подвижным грунтам (например, по склонам балок или берегам рек), и встречался на засоленных глинистых понижениях.

Можно ли говорить, что горчак является аборигенным для этой территории видом? Однозначно ответить на этот вопрос сложно, так как разграничение аборигенного и адвентивного компонента связано с определенными трудностями. Тем не менее полученные данные показывают, что это очень древний занос (возможно, связанный с вторжением войск Монгольской империи или произошедший даже ранее), который стал фиксироваться ботаниками на рубеже XVIII–XIX веков, и что этот вид можно классифицировать как археофит. Точное время заноса сложно установить, учитывая историческое прошлое и этническую гетерогенность территории.

Не менее важно другое: с каких времен горчак становится здесь сорным видом? К сожалению, существует значительный пробел в ботанической литературе тех времен, вызванный отсутствием интереса ботаников к изучению сорной растительности. Можно предположить, что начало его изучения было связано с развитием сельского хозяйства в конце XIX – начале XX века.

С середины XIX века Среднее Поволжье становится интенсивно осваиваемой территорией. Строительство засечных черт положило начало активному заселению края, его сельскохозяйственной и промышленной колонизации, начавшейся с середины XVII века и продолжавшейся вплоть до начала XX века (Кабытов и др., 2015).

Историки отмечали, что характерной чертой аграрного развития Поволжья в это время были экстенсивные методы земледелия. Под посевы шли распаханые залежи, луга и пастбища. Улучшения в агротехнике были заметны в крестьянских хозяйствах фермерского типа на степном юге Самарской губернии, в хозяйстве немцев-колонистов в Поволжье. Железные дороги дали мощный импульс формированию пространства хлебного рынка Поволжья и интенсифицировали связи региона с другими частями империи. В результате уже к началу XX века заволжские степи обрели статус российской житницы, одного из основных центров товарного зернового производства, поставщиков хлеба на внутренний и внешний рынки (Дубман и др., 2004).

Таким образом, в ходе распашки степей происходили резкие процессы трансформации естественной растительности с формированием уникального сорно-полевого комплекса видов. Безобидные на первый взгляд растения, из-за своих биологических особенностей, становились злостными сорняками и приобретали удивительно

The rich nature of this region attracted the attention of numerous naturalists.

At the beginning of the 18th century, these territories were actively visited by botanists during the famous academic expeditions (P.S. Pallas, S.G. Gmelin, I.A. Gildenshtedt, I.I. Lepekhin, etc.) (Sytin, 2019).

In the work of the German chemist and botanist Karl Klaus "Flora der Wolgagedenden" (1851), which describes botanical studies of the steppes between the Ural and Volga rivers, carried out in 1827 under the guidance of Professor E.F. Eversman, Russian knapweed is already mentioned, which was detected in the vicinity of the German colony of Sarepta. The botanist and entomologist Alexander Becker, who was born in Sarepta and devoted his life to studying the nature of the Lower Volga, also indicates this species in the ravines near the Volga and along the clay steppes (Becker, 1858). From all this, it is clear that even then Russian knapweed was part of semi-natural plant communities confined to erosionally mobile soils (for example, along the slopes of gullies or river banks), and was detected on saline clay depressions.

Is it possible to say that Russian knapweed is a native species for this territory? It is difficult to unequivocally answer this question, since the distinction between the aboriginal and the adventive component is associated with certain difficulties. Nevertheless, the data obtained show that this is a very ancient drift (possibly associated with the invasion of the troops of the Mongol Empire or even earlier), which began to be recorded by botanists at the turn of the 18th–19th centuries, and that this species can be classified as an archeophyte. The exact time of the drift is difficult to establish, given the historical past and the ethnic heterogeneity of the territory.

Another thing is no less important: since when does Russian knapweed become a weedy species here? Unfortunately, there is a significant gap in the botanical literature of those times, caused by the lack of interest of botanists in the study of weeds. It can be assumed that the beginning of its study was associated with the development of agriculture in the late 19th – early 20th century.

Since the middle of the 19th century, the Middle Volga region has become an intensively developed territory. The construction of the serif lines marked the beginning of the active settlement of the region, its agricultural and commercial colonization, which began in the middle of the 17th century and continued until the beginning of the 20th century (Kabytov et al., 2015).

Historians noted that a characteristic feature of the agrarian development of the Volga region at that time was extensive farming methods. Under the crops were plowed fallows, meadows and pastures. Improvements in agricultural technology were noticeable in the peasant farms of the farm type in the steppe south of the Samara province, in the economy of the German colonists in the Volga region. The railways gave a powerful impetus to the formation of the Volga grain market space and intensified the region's ties with other parts of the empire. As a result, by the beginning of the 20th century, the Trans-Volga steppes acquired the status of a Russian granary, one of the main centers of

активную жизненную стратегию при регулярной обработке почвы.

Профессор Л.И. Казакевич (1965), оценивая процесс расселения горчака в Волгоградской области, отмечал, что до 1939 г. горчак засорял в основном необрабатываемые земли (лиманы, пдины, пойменные и солончаковые луга). Но уже к 1965 г. он стал грозным засорителем полей с общей площадью 164 тыс. га. Наибольшие территории он занимал в заволжских (Палласовский, Старополтавский, Среднеахтубинский) и южных районах (Октябрьский, Суровикинский, Котельниковский), но постепенно продвигался в правобережье Волги. Одним из важных путей разноса

commercial grain production, suppliers of bread to the domestic and foreign markets (Dubman et al., 2004).

Thus, during the plowing of the steppes, abrupt processes of transformation of natural vegetation occurred with the formation of a unique weed-field complex of species. Harmless at first glance, plants, due to their biological characteristics, became malicious weeds and acquired a surprisingly active life strategy with regular tillage.

Professor L.I. Kazakevich (1965), evaluating the process of spreading of Russian knapweed in Volgograd Oblast, noted that until 1939 Russian knapweed contaminated mainly uncultivated lands (estuaries, depressions, floodplain and solonchak meadows). But

already by 1965, it had become a formidable weed in the fields with a total area of 164 000 hectares. It occupied the largest territories in the Trans-Volga (Pallasovsky, Staropoltavsky, Sredneakhtubinsky) and southern regions (Oktyabrsky, Surovikinsky, Kotelnikovsky), but gradually moved to the right bank of the Volga. One of the important pathways for the weed is the movement of hay and straw from infected fields.

To date, Russian knapweed in Volgograd Oblast has been registered on an area of about 125 718.5 thousand hectares (National report, 2022). Thanks to phytosanitary measures carried out by the Office of the Rosselkhoz nadzor in the Rostov Oblast, Volgograd Oblast and Astrakhan Oblast and the Republic of Kalmykia, the area of quarantine phytosanitary zones in the region has decreased by 73 thousand hectares compared to 2010 (previously, quarantine phytosanitary zones were established within the boundaries of municipal districts).

Surveys conducted by employees of the Volgograd branch of FGBU "VNIKR" in 2006–2008 showed a high degree of contamination of crops in the territory of the Pallasovsky, Olkhovsky, Oktyabrsky districts. Thickets of Russian knapweed in some fields had both a marginal heterogeneous location and formed large concentric circles in the center of the fields (Fig. 5–7). Over the past 15 years, the situation has improved significantly due to the introduction of integrated plant protection methods.

In the conditions of Volgograd Oblast, effective measures in control of Russian knapweed are regular mowing (3–4 per growing season) before the weed bears fruit; allotment of Russian knapweed lands for fallows with subsequent grassing with perennial grasses



Рис. 5. Очаг горчака ползучего в посевах пшеницы на территории Палласовского района Волгоградской области, 2008 г. (фото авторов)

Fig. 5. Russian knapweed outbreak in wheat in the territory of the Pallasovsky district of Volgograd Oblast, 2008 (photo by the authors)



Рис. 6. Посевы кукурузы, засоренные горчаком ползучим, на территории Волгоградской области, 2006 г. (фото авторов)

Fig. 6. Corn crops contaminated by Russian knapweed on the territory of Volgograd Oblast, 2006 (photo by the authors)

сорняка является перемещение сена и соломы с зараженных полей.

На сегодняшний день горчак в Волгоградской области зарегистрирован на площади около 125 718,5 тыс. га (Национальный доклад, 2022). Благодаря фитосанитарным мероприятиям, проводимым Управлением Россельхознадзора по Ростовской, Волгоградской и Астраханской областям и Республике Калмыкии, площадь карантинных фитосанитарных зон на территории области сократилась на 73 тыс. га по сравнению с 2010 г. (ранее карантинные фитосанитарные зоны были установлены в границах муниципальных районов).

Обследования, проведенные сотрудниками Волгоградского филиала ФГБУ «ВНИИКР» в 2006–2008 гг., показали высокую степень засоренности посевов на территории Палласовского, Ольховского, Октябрьского районов. Заросли горчача на отдельных полях имели как краевой неоднородный характер расположения, так и формировали большие концентрические круги по центру полей (рис. 5–7). За прошедшие 15 лет ситуация существенно улучшилась, что связано с внедрением интегрированных методов защиты растений.

В условиях Волгоградской области эффективными мерами в борьбе с горчаком являются регулярные скашивания (3–4 за вегетацию) до плодоношения сорняка; отведение загорчачованных земель под пары с последующим залужением многолетними травами или последующим 2-летним посевом озимых зерновых культур с повышенной нормой высева; проведение 3–4 культиваций на полях в сочетании с обработками гербицидами сплошного действия (смеси эфира 2,4-Д с флорасуламом, флуороксипилом, сульфониломочевинными производными, дикамбой и др.) (Сидоренко, 2018). Полного уничтожения сорняка можно добиться при сочетании агротехнических мероприятий с применением гербицидов.



Рис. 7. Посевы рыжика посевного, засоренного горчаком ползучим, на территории Октябрьского района Волгоградской области, 2006 г. (фото авторов)

Fig. 7. Camelina crops contaminated by Russian knapweed in the Oktyabrsky district of Volgograd Oblast, 2006 (photo by the authors)

or subsequent two-year sowing of winter crops with an increased seeding rate; carrying out 3–4 cultivations in the fields in combination with continuous herbicide treatments (mixtures of 2,4-D ester with florasulam, fluroxypyr, sulfonylurea derivatives, dicamba, etc.) (Sidorenko, 2018). Complete destruction of the weed can be achieved by combining agrotechnical measures with the use of herbicides.

CONCLUSION

After analyzing the floristic lists and agronomic reports of the beginning of the 18th–20th centuries, an assumption is made that Russian knapweed is an archeophyte for the territory of the Crimea and the Lower Volga region. The total plowing of virgin steppes over the past 150 years, combined with a low level of agricultural culture and the lack of an integrated approach to crop protection, has led to the subsequent unfavorable phytosanitary state of agroecosystems in southern Russia. The results obtained indicate the need to carry out further work on the inventory of lands contaminated with Russian knapweed and measures for its eradication. The authors hope to continue research on the reconstruction of the distribution history of *Acroptilon repens* (L.) DC. on the territory of Russia, taking into account a comprehensive morphological and molecular genetic analysis.

Acknowledgement. The authors express their sincere gratitude to the researcher of the Botanical Garden of VGSPU, A.V. Popov, and Senior Researcher of the Laboratory of Biogeography and Biodiversity Monitoring of the Steppe Institute of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, PhD in Biology, O.G. Kalmykova.

REFERENCES

1. Abramova L., Mustafina A., Nurmieva S., Golovanov Ya. Biology of *Acroptilon repens* in the South Urals [K biologii i ekologii gorchaka polzuchego (*Acroptilon repens*) na Yuzhnom Urale]. *Ecosystems*, 2020; 21 (51): 75–84 (in Russian).
2. Bagrikova N. Structural analysis of the adventitious fraction of the flora of the Crimean Peninsula (Ukraine) [Strukturnyy analiz adventivnoy fraktsii flory Krymskogo poluostrova (Ukraina)]. *Ukrainian Botanical Journal*, 2013a; 70, 4: 489–507 (in Russian).
3. Bagrikova N. Adventive plant species in the territories of natural reserves of the Crimea [Adventivnyye vidy rasteniy na territoriyakh prirodnykh zapovednikov Kryma]. *Proceedings of the GNBS*, 2013b; 135: 96–106 (in Russian).
4. Brouver V., Shtelin A. Handbook of seed science of agricultural, forestry and ornamental crops with a key to identify the most important seeds [Spravochnik po semenovedeniyu selskokhozyaystvennykh, lesnykh

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

После анализа флористических списков и агрономических отчетов начала XVIII–XX века делается предположение, что горчак ползучий является археофитом для территории Крыма и Нижнего Поволжья. Тотальная распашка целинных степей за последние 150 лет в сочетании с низким уровнем культуры земледелия и отсутствием комплексного подхода защиты посевов стала причиной последующего неблагоприятного фитосанитарного состояния агроэкосистем юга России. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости проводить дальнейшую работу по инвентаризации зараженных горчаком земель и мероприятия по его уничтожению. Авторы надеются продолжить исследования по реконструкции истории расселения *Acroptilon repens* (L.) DC. на территории России с учетом комплексного морфологического и молекулярно-генетического анализа.

Благодарность. Авторы выражают искреннюю признательность научному сотруднику Ботанического сада ВГСПУ А.В. Попову и старшему научному сотруднику лаборатории биогеографии и мониторинга биоразнообразия Института степи УрО РАН кандидату биологических наук О.Г. Калмыковой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова Л., Мустафина А., Нурмиева С., Голованов Я., 2020. К биологии и экологии горчака ползучего (*Acroptilon repens*) на Южном Урале. – Эко-системы, 21 (51): 75–84.
2. Багрикова Н., 2013а. Структурный анализ адвентивной фракции флоры Крымского полуострова (Украина). – Укр. ботан. журн., Т. 70, 4: 489–507.
3. Багрикова Н., 2013б. Адвентивные виды растений на территориях природных заповедников Крыма. – Сборник трудов ГНБС, Т. 135: 96–106.
4. Броувер В., Штелин А. Справочник по семеноведению сельскохозяйственных, лесных и декоративных культур с ключом для определения важнейших семян. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2010, 694 с.
5. Вульф Е. Флора Крыма. Сборник научных трудов. – Ялта, 1969, 393 с.
6. Дубман Э., Кабытов П., Тагирова Н. Очерки истории юго-востока европейской России. – Самара: Самарский университет, 2004, 296 с.
7. Иванова Т.С., 1966. Биологический контроль горчака ползучего (*Acroptilon picris* C.A.M.) – Изв. АН Таджикистана, № 2: 51–52.
8. Казакевич Л., Галкина З. Карантинные сорняковые растения Волгоградской области и способы их уничтожения. – Волгоград: Нижне-Волжское книжное издательство, 1965, 73 с.
9. Карантинные сорняки и борьба с ними / под общей редакцией д. с.-х. наук А.В. Фисюнова. – Днепропетровск: Изд-во Промінь, 1970, 153 с.
10. Ленков П. Семена полевых сорных растений Европейской части СССР. – М.–Л.: Государственное издательство сельскохозяйственной и колхозно-кооперативной литературы, 1932, 243 с.
11. Кабытов П., Дубман Э., Леонтьева О., 2015. Средняя волга и Заволжье в процессе формирования российской государственности: современная концепция. – Quaestio Rossica, № 2: 117–131.

и декоративных культур с ключом для определения важнейших семян]. М.: Association of scientific publications KMK, 2010, 694 p. (in Russian).

5. Vulf E. Flora of Crimea. Collection of scientific papers [Flora Kryma. Sbornik nauchnykh trudov]. Yalta, 1969, 393 p. (in Russian).

6. Dubman E., Kabytov P., Tagirova N. Essays on the history of the southeast of European Russia [Ocherki istorii yugo-vostoka yevropeyskoy Rossii]. Samara: Samara University, 2004, 296 p. (in Russian).

7. Ivanova T.S. Biological control of *Acroptilon picris* C.A.M. [Biologicheskii kontrol' gorchaka polzuchego (*Acroptilon picris* C.A.M.)]. *Izv. Academy of Sciences of Tajikistan*, 1966; 2: 51–52 (in Russian).

8. Kazakevich L., Galkina Z. Quarantine weeds of Volgograd Oblast and methods of their eradication [Karantinnyye sornyye rasteniya Volgogradskoy oblasti i sposoby ikh unichtozheniya]. Volgograd: Nizhne-Volzhskoe book publishing house, 1965, 73 p. (in Russian).

9. Quarantine weeds and their control [Karantinnyye sornyye i borba s nimi]. Under the general editorship of D.S.-Kh. Sciences A.V. Fisyunova. Dnepropetrovsk: Publishing House Promin, 1970, 153 p. (in Russian).

10. Lenkov P. Seeds of field weeds of the European part of the USSR [Semena polevykh sornykh rasteniy Yevropeyskoy chasti SSSR]. M.–L.: State publishing house of agricultural and collective-farm-cooperative literature, 1932, 243 p. (in Russian).

11. Kabytov P., Dubman E., Leontyeva O. Middle Volga and Trans-Volga region in the process of formation of Russian statehood: a modern concept [Srednyaya volga i Zavolzhye v protsesse formirovaniya rossiyskoy gosudarstvennosti: sovremennaya kontseptsiya]. *Quaestio Rossica*, 2015; 2: 117–131 (in Russian).

12. Kott S. Quarantine weeds and their control. [Karantinnyye sornyye rasteniya i borba s nimi]. M.: Selkhozgiz, 1953, 223 p. (in Russian).

13. Mayevsky P. Flora of Central Russia [Flora sredney Rossii]. 5th edition. M., 1917, 909 p. (in Russian).

14. Maltsev A. Weed vegetation of the USSR [Sornaya rastitelnost SSSR]. M.: Selkhozgiz, 1932, 296 p. (in Russian).

15. Maltsev A. Atlas of the most important species of weeds in the USSR [Atlas vazhneyshikh vidov sornykh rasteniy SSSR]. T. 1. M.–L.: State publishing house of collective farm and state farm literature, 1937; 138–140 (in Russian).

16. Mordovets A.A. *Acroptilon repens* and its control [Gorchak i borba s nim]. Simferopol: Tavria, 1972, 69 p. (in Russian).

17. Moskalenko G. Quarantine weeds in Russia [Karantinnyye sornyye rasteniya Rossii]. M.: State. Plant Quarantine Inspectorate of the Russian Federation (Rosgoskarantin), 2001, 277 p. (in Russian).

18. Nikitin V. Weeds of the flora of the USSR [Sornyye rasteniya flory SSSR]. L.: Nauka, 1983, 454 p. (in Russian).

19. Overview of the spread of quarantine pests, plant diseases and weeds in Ukraine [Obzor rasprostraneniya karantinnykh vreditel'nykh, bolezn'nykh rasteniy i sornyakov v Ukraine]. 1999. Kyiv, 101 p. (in Russian).

12. Котт С. Карантинные сорные растения и борьба с ними. – М.: Сельхозгиз, 1953, 223 с.
13. Маевский П. Флора средней России. 5-е издание. – М., 1917, 909 с.
14. Мальцев А. Сорная растительность СССР. – М.: Сельхозгиз, 1932, 296 с.
15. Мальцев А., 1937. Атлас важнейших видов сорных растений СССР. Т. 1. – М.–Л.: государственное издательство колхозной и совхозной литературы, с. 138–140.
16. Мордовец А.А. Горчак и борьба с ним. – Симферополь.: Таврия, 1972, 69 с.
17. Москаленко Г. Карантинные сорные растения России. – М.: Гос. инспекция по карантину растений Российской Федерации (Росгоскарантин), 2001, 277 с.
18. Никитин В. Сорные растения флоры СССР. – Л.: Наука, 1983, 454 с.
19. Обзор распространения карантинных вредителей, болезней растений и сорняков в Украине. 1999. – Киев, 101 с.
20. Отчет Центральной карантинной лаборатории МСХ СССР. Быково, 1968, 149 с.
21. Определитель карантинных сорняков / под общ. редакцией Н.С. Щербиновского. – М.: Изд-во Всесоюзной академии с.-х. наук. им. В.И. Ленина, 1936, 56 с.
22. Протопопова В. Синантропная флора Украины и пути ее развития. – Киев: Наукова Думка, 1991, 204 с.
23. Раскин М.С. Искоренение горчака ползучего (розового) химическими средствами; автореф. дис...канд. с.-х. наук. 06.01.01 / Раскин Михаил Сергеевич. – М., 1968. – 16 с.
24. Сафра Р. Горчак розовый и меры борьбы с ним. – М.: Сельхозиздат, 1962, 29 с.
25. Сидоренко А., 2018. Нужны решительные меры по освобождению полей от горчака. – Защита и карантин растений, № 12: 7–9.
26. Сорные растения СССР, 1935. Руководство к определению сорных растений СССР / под ред. акад. Б.А.Келлера и др. – М.–Л.: изд-во АН СССР: 290–292.
27. Сулима А. Результаты изучения способов борьбы с горчаком розовым на Гениченской опытной станции. Сборник научных трудов. Новое в борьбе с сорными растениями. – М., 1959, 145 с.
28. Сытин А.К., 2019. Академические «физические» экспедиции и специализация ботаники. – *Kunstkamera*, № 3 (5): 179–188.
29. Талиев В., 1900. Флора Крыма и роль человека в ее развитии. – Тр. о-ва испытателей природы при Харьковском ун-те. Харьков, Т. 35: 107–338.
30. Хандусенко П., 1983. Система мер борьбы с горчаком ползучим при основной обработке почвы и в пару в богарных условиях юга Украины. В кн.: Сборник научных трудов. Карантинные сорные растения и борьба с ними. – М., 205 с.
31. Чебановская А., Могилюк Н., 2015. Горчак ползучий на территории Украины. – Защита и карантин растений, № 2: 43–44.
32. Флора юго-востока европейской части СССР (под общ. ред. Б.К. Шишкина). Вып. VI. Pteridaceae – Compositae. М.–Л.: изд-во Академии наук СССР, 1936, 483 с.
33. Шмальгаузен И. Флора средней и южной России, Крыма и Северного Кавказа. Т. 2.
20. Report of the Central Quarantine Laboratory of the Ministry of Agriculture of the USSR. Bykovo, 1968, 149 p. (in Russian).
21. Key to quarantine weeds [Opredelitel karantinnykh sornyakov]. Under total. edited by N.S. Shcherbinovsky. M.: Publishing house of the All-Union Lenin Academy of Agricultural Sciences, 1936, 56 p. (in Russian).
22. Protopopova V. Synanthropic flora of Ukraine and ways of its development [Sinantropnaya flora Ukrainy i puti yeye razvitiya]. Kyiv: Naukova Dumka, 1991, 204 p. (in Russian).
23. Raskin M.S. Eradication of *Acroptilon repens* by chemical means; abstract dis...PhD in Agriculture. 06.01.01. Raskin Mikhail Sergeevich. M., 1968. 16 p. (in Russian).
24. Safra R. *Acroptilon repens* and measures of its control [Gorchak rozovyy i mery borby s nim]. M.: Selkhozizdat, 1962, 29 p. (in Russian).
25. Sidorenko A. We need decisive measures to clear the fields from the Russian knapweed [Nuzhny reshitelnyye mery po osvobozhdeniyu poley ot gorchaka]. *Plant Protection and Quarantine*, 2018; 12: 7–9 (in Russian).
26. Weeds of the USSR. Guide to identification of weeds of the USSR [Rukovodstvo k opredeleniyu sornykh rasteniy SSSR]. Ed. acad. B.A. Keller and others. M.–L.: Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR: 1935; 290–292 (in Russian).
27. Sulima A. Results of the study of ways to control the Russian knapweed at the Genichen experimental station [Rezultaty izucheniya sposobov borby s gorchakom rozovym na Genichenskoj opytnoy stantsii]. Collection of scientific papers. New in the fight against weeds. M., 1959, 145 p. (in Russian).
28. Sytin A.K. Academic “physical” expeditions and the specialization of botany [Akademicheskiye “fizicheskiye” ekspeditsii i spetsializatsiya botaniki]. *Kunstkamera*, 2019; 3 (5): 179–188 (in Russian).
29. Taliev V., 1900. Flora of the Crimea and the role of man in its development [Flora Kryma i rol cheloveka v yeye razvitiy]. Tr. islands of nature testers at Kharkov University. Kharkiv, T. 35: 107–338 (in Russian).
30. Khandusenko P., 1983. The system of measures to control the Russian knapweed in the main tillage and fallow in rainfed conditions in the south of Ukraine [Sistema mer bor'by s gorchakom polzuchim pri osnovnoy obrabotke pochvy i v paru v bogarnykh usloviyakh yuga Ukrainy]. In: Collection of scientific papers. Quarantine weeds and their control. M., 205 p. (in Russian).
31. Chebanovskaya A., Mogilyuk N. *Acroptilon Repens* in the Ukraine territory. *Plant Protection and Quarantine*, 2015; 2: 43–44 (in Russian).
32. Flora of the South-East of the European part of the USSR [Flora yugo-vostoka yevropeyskoj chasti SSSR] (under the general editorship of B.K. Shishkin). Issue VI. Pteridaceae – Compositae. M.–L.: publishing house of the Academy of Sciences of the USSR, 1936, 483 p. (in Russian).
33. Schmalgauzen I. Flora of Central and Southern Russia, Crimea and the North Caucasus [Flora sredney i yuzhnoy Rossii, Kryma i Severnogo Kavkaza]. Т. 2.

Двудольные сростнолепестные и безлепестные. Однодольные, голосеменные и высшие споровые. – Киев, 1897, 118 с.

34. Яковлева В., 2022. Национальный доклад о карантинном фитосанитарном состоянии территории Российской Федерации в 2021 г. – Фитосанитария. Карантин растений, № 2 (10): 2–13.

35. Becker A., 1858. Verzeichniss der um Sarepta wildwachsenden Pflanzen. – Bulletin de la Societe imperiale des naturalists de Moscou, Vol. XXXI, № 1, 377 с.

36. Bieberstein F. Flora Taurico-Caucasica. Vol. 3. – Charkoviae, 1819, 654 p.

37. Cassini A. Dictionnaire des Sciences Naturelles. Ed. 2, 1827, 50 p.

38. De Candolle A. Prodrum Systematis Naturalis Regni Vegetabilis (DC.). Vol. 6, 1837, 663 p.

39. Frankton C., Mulligan G.A. Weeds of Canada. Publication 948, Agriculture Canada, 1993, 217 p.

40. Hidalgo O., Garcia-Jacas N., Garnatje T., Susanna A., 2006. Phylogeny of *Rhaponticum* (Asteraceae, Cardueae – Centaureinae) and Related Genera Inferred from Nuclear and Chloroplast DNA Sequence Data: Taxonomic and Biogeographic Implications. – Annals of Botany, № 97 (5): 705–714. URL: <https://doi.org/10.1093/aob/mcl029>. PMC 2803413. PMID 16495316.

41. Hind D.J.N., 2019. *Leuzea repens*, a new combination (Compositae: Cardueae: Centaureinae). – Kew Bulletin, 74, 20. URL: <https://doi.org/10.1007/s12225-019-9809-2>.

42. Hoffman O. *Centaurea* L. 1897. Die naturlichen Pflanzenfamilien. – Leipzig, T. 4, Abt. 5, p. 326–332.

43. Holm L., Pancho J., Hergerger J., Plucknett D. A geographical Atlas of world weeds, Krieger publishing Company, Malabar, Florida (US), 1991, 391 p.

44. Linnaeus C. Species plantarum, exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas [лат.]. – Editio secunda, aucta. – Holmiae: L. Salvius, 1763. – Vol. II. – [i], 785–1684 [1–64, указатели].

45. Maddox D., Mayfield A. & Poritz N., 1985. Distribution of Yellow Starthistle (*Centaurea solstitialis*) and Russian Knapweed (*Centaurea repens*). – Weed Sci., 33 (3): 315–327.

46. Moore R., 1972. Distribution of native and introduced knapweeds (*Centaurea*) in Canada and the United States. – Rhodora, 74 (799): 331–346.

47. Quattrocchi, U., 2000. CRC World dictionary of plant names: common names, scientific names, eponyms, synonyms, and etymology. – CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., Vol. I: A–C.

48. Reed C. Economically imported foreign weeds. Potential problems in the United States, Agriculture Handbook no. 498. – USDA: Washington, USA, 1977, 746 p.

49. USDA, 2015. Field guide for managing Russian knapweed in the Southwest. TP-R3-16-13. USDA, Southwest Region, Albuquerque.

50. Watson A., 1980. The biology of Canadian weeds. 43. *Acroptilon* (*Centaurea*) *repens* (L.) DC. – Canadian Journal of Plant Science, 60 (3): 993–1004.

51. Willdenow C., 1803. Species Plantarum. Editio quarta. Tomus 3, pars 3, p. [1477]–2409. Berolini: G.C. Nauk.

52. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения,

Dicotyledonous and apetalous. Monocots, gymnosperms and higher spores. Kyiv, 1897, 118 p. (in Russian).

34. Yakovleva V. National report on the quarantine phytosanitary state of the territory of the Russian Federation in 2021. *Plant Health and Quarantine*, 2022; 2 (10): 2–13.

35. Becker A., 1858. Verzeichniss der um Sarepta wildwachsenden Pflanzen. *Bulletin de la Societe imperiale des naturalists de Moscou*, Vol. XXXI, № 1, 377 с.

36. Bieberstein F. Flora Taurico-Caucasica. Vol. 3. *Charkoviae*, 1819, 654 p.

37. Cassini A. Dictionnaire des Sciences Naturelles. Ed. 2, 1827, 50 p.

38. De Candolle A. Prodrum Systematis Naturalis Regni Vegetabilis (DC.). Vol. 6, 1837, 663 p.

39. Frankton C., Mulligan G.A. Weeds of Canada. Publication 948, Agriculture Canada, 1993, 217 p.

40. Hidalgo O., Garcia-Jacas N., Garnatje T., Susanna A. Phylogeny of *Rhaponticum* (Asteraceae, Cardueae – Centaureinae) and Related Genera Inferred from Nuclear and Chloroplast DNA Sequence Data: Taxonomic and Biogeographic Implications. *Annals of Botany*, 2006; № 97 (5): 705–714. URL: <https://doi.org/10.1093/aob/mcl029>. PMC 2803413. PMID 16495316.

41. Hind D.J.N. *Leuzea repens*, a new combination (Compositae: Cardueae: Centaureinae). *Kew Bulletin*, 2019; 74, 20. URL: <https://doi.org/10.1007/s12225-019-9809-2>.

42. Hoffman O. *Centaurea* L. 1897. Die naturlichen Pflanzenfamilien. Leipzig, T. 4, Abt. 5, p. 326–332.

43. Holm L., Pancho J., Hergerger J., Plucknett D. A geographical Atlas of world weeds, Krieger publishing Company, Malabar, Florida (US), 1991, 391 p.

44. Linnaeus C. Species plantarum, exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas [Lat.]. Editio secunda, aucta. Holmiae: L. Salvius, 1763. Vol. II. [i], 785–1684 [1–64, indicators].

45. Maddox D., Mayfield A. & Poritz N. Distribution of Yellow Starthistle (*Centaurea solstitialis*) and Russian Knapweed (*Centaurea repens*). *Weed Sci.*, 1985; 33 (3): 315–327.

46. Moore R. Distribution of native and introduced knapweeds (*Centaurea*) in Canada and the United States. *Rhodora*, 1972; 74 (799): 331–346.

47. Quattrocchi, U., 2000. CRC World dictionary of plant names: common names, scientific names, eponyms, synonyms, and etymology. CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., Vol. I: A–C.

48. Reed C. Economically imported foreign weeds. Potential problems in the United States, Agriculture Handbook no. 498. USDA: Washington, USA, 1977, 746 p.

49. USDA, 2015. Field guide for managing Russian knapweed in the Southwest. TP-R3-16-13. USDA, Southwest Region, Albuquerque.

50. Watson A. The biology of Canadian weeds. 43. *Acroptilon* (*Centaurea*) *repens* (L.) DC. *Canadian Journal of Plant Science*, 1980; 60 (3): 993–1004.

51. Willdenow C., 1803. Species Plantarum. Editio quarta. Tomus 3, pars 3, p. [1477]–2409. Berolini: G.C. Nauk.

их болезни, вредители и сорные растения [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.agroatlas.ru/ru/> (дата обращения: 15.08.2022).

53. Серегин А. (ред.), 2022. Цифровой гербарий МГУ [Электронный ресурс]. – URL: <https://plant.depo.msu.ru/> (дата обращения 15.08.2022).

54. CABI Crop Protection Compendium [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.cabi.org/cpc> (дата обращения: 10.08.2022).

55. EPPO Global Database [Электронный ресурс]. – URL: <https://gd.eppo.int> (дата обращения: 01.08.2022).

56. Global Biodiversity Information Facility [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.gbif.org/species/3142214> (дата обращения: 10.08.2022).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Кулакова Юлиана Юрьевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник – начальник научно-методического отдела инвазивных видов растений ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; *ORCID 0000-0002-9973-7584; e-mail: thymus73@mail.ru.*

Орлова Юлия Викторовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-методического отдела инвазивных видов растений ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; *ORCID 0000-0002-3330-6976, e-mail: orl-jul@mail.ru.*

Омельяненко Татьяна Зеликовна, младший научный сотрудник научно-методического отдела Южного филиала ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений», г. Симферополь, Россия; *ORCID 0000-0003-2200-8591, e-mail: o.tanya-work@yandex.ru.*

Комаров Дмитрий Анатольевич, младший научный сотрудник Волгоградского филиала ФГБУ «ВНИИКР», г. Волгоград, Россия; *ORCID 0000-0002-2640-2257, e-mail: komarov_da1974@mail.ru.*

Кулаков Виталий Геннадьевич, старший научный сотрудник – начальник отдела организации МСИ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; *ORCID 0000-0002-7090-3139, e-mail: vitaliyk2575@mail.ru.*

52. Agroecological atlas of Russia and neighboring countries: economically significant plants, their diseases, pests and weeds [Electronic resource]. URL: <http://www.agroatlas.ru/ru/> (last accessed: 15.08.2022).

53. Seregin A. (ed.), 2022. Digital herbarium of Moscow State University [Electronic resource]. URL: <https://plant.depo.msu.ru/> (last accessed 15.08.2022).

54. CABI Crop Protection Compendium [Electronic resource]. URL: <https://www.cabi.org/cpc> (last accessed: 10.08.2022).

55. EPPO Global Database [Electronic resource]. URL: <https://gd.eppo.int> (last accessed: 01.08.2022).

56. Global Biodiversity Information Facility [Electronic resource]. URL: <https://www.gbif.org/species/3142214> (last accessed: 10.08.2022).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Yuliana Kulakova, PhD in Biology, Leading Researcher, Head of Research and Methodology Department for Invasive Plant Species, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; *ORCID 0000-0002-9973-7584; e-mail: thymus73@mail.ru.*

Yulia Orlova, PhD in Biology, Senior Researcher, Research and Methodology Department for Invasive Plant Species, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; *ORCID 0000-0002-3330-6976, e-mail: orl-jul@mail.ru.*

Tatiana Omelianenko, Junior Researcher, Research and Methodology Department, Southern Branch of FGBU “VNIICR”, Simferopol, Russia; *ORCID 0000-0003-2200-8591, e-mail: o.tanya-work@yandex.ru.*

Dmitry Komarov, Junior Researcher, Volgograd Branch of FGBU “VNIICR”, Volgograd, Russia; *ORCID 0000-0002-2640-2257, e-mail: komarov_da1974@mail.ru.*

Vitaly Kulakov, Senior Researcher, Head of Interlaboratory comparative tests organization, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; *ORCID 0000-0002-7090-3139, e-mail: vitaliyk2575@mail.ru.*

Чужеродные насекомые – фитофаги сельскохозяйственных, декоративных и лесных насаждений Крыма

Н.М. СТРЮКОВА¹, А.А. СТРЮКОВ²

¹ Южный филиал ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), г. Симферополь, Республика Крым, Россия

² Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского (ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»), г. Симферополь, Республика Крым, Россия

¹ ORCID 0000-0003-2285-0228;
e-mail: stryukovanata@mail.ru

² e-mail: zoostr@mail.ru

АННОТАЦИЯ

В результате проведенных исследований нами были изучены 37 чужеродных, в том числе карантинных, видов насекомых, проникших в последние годы на территорию Республики Крым. Из видов, включенных в Единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза, были обнаружены: золотистая двухпятнистая совка, восточная плодожорка, американская белая бабочка, калифорнийская и японская палочковидная щитовки, японская восковая ложнощитовка, картофельная и южноамериканская томатная моли, филлоксера, западный цветочный трипс, платановая и дубовая кружевницы, сосновый семенной и коричнево-мраморный клопы.

Начиная с 2017 г. стремительно распространяется один чужеродный вид – дубовая кружевница. Этот фитофаг практически повсеместно вредит различным видам дубов, липе крупнолистной и другим культурам, но может причинять вред и человеку, нанося мелкие уколы кожи своим хоботком.

Из некарантинных видов следует отметить проникновение на территорию полуострова самшитовой огневки, или самшитовой травянки, распространившейся с посадочным материалом и путем активных перелетов. С 2014 г. этот вид представляет большую угрозу различным видам самшита в Крыму. Значительные повреждения декоративным и сельскохозяйственным культурам наносят еще 2 чужеродных вида – австралийский желобчатый червец (на Южном берегу Крыма с 2010 г.) и белая цикадка, которая продолжает распространяться с 2018 г.

Результаты работы имеют прикладное значение для оценки фитосанитарного состояния сельскохозяйственных, декоративных и лесных культур в Республике Крым с целью изучения чужеродных видов, проникших на территорию полуострова.

Ключевые слова. Чужеродные виды, инвазивные виды, Республика Крым, карантинный вредный организм, распространение.

Alien insects – phytophages of agricultural, ornamental and forest plantations of the Crimea

N.M. STRYUKOVA¹, A.A. STRYUKOV²

¹ Southern Branch of FGBU “All-Russian Plant Quarantine Center” (FGBU “VNIIKR”), Simferopol, Republic of Crimea, Russia

² V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russia

¹ ORCID 0000-0003-2285-0228;
e-mail: stryukovanata@mail.ru

² e-mail: zoostr@mail.ru

ABSTRACT

As a result of the research, we studied 37 alien insect species, including the quarantine ones, that have been introduced into the territory of the Republic of Crimea in recent years. There were detected some of the species included in the Common List of Quarantine Objects of the Eurasian Economic Union: *Chrysodeixis chalcites* (Esper), *Grapholita molesta* (Busck), *Hyphantria cunea* (Drury), *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock), *Lopholeucaspis japonica* (Cockerell), *Ceroplastes japonicus* (Green), *Phthorimaea operculella* (Zeller), *Tuta absoluta* (Meyrick), *Daktulosphaira vitifoliae* (Fitch, 1855), *Frankliniella occidentalis* (Pergande), *Corythucha ciliata* (Say), *Corythucha arcuata* (Say), *Leptoglossus occidentalis* (Heidemann) and *Halyomorpha halys* (Stål).

Since 2017, one alien species has been rapidly spreading – *C. arcuata*. This phytophage harms various species of oaks, large-leaved linden and other crops almost everywhere, and also can harm humans by inflicting small skin injections with its proboscis.

Of the non-quarantine species, it should be noted that *Cydalima perspectalis* (Walker) was introduced into the peninsula, which spread with planting material and by active flights. Since 2014, this species has been a major threat to various boxwood species in the Crimea. Significant damage to ornamental and agricultural crops is caused by 2 other alien species – *Icerya purchasi* (Maskell) (on the southern coast of Crimea since 2010), and *Metcalfa pruinosa* (Say), which has been spreading since 2018.

The results of the work are of applied importance for assessing the phytosanitary state of agricultural, ornamental and forest crops in the Republic of Crimea in order to study alien species that have been introduced into the peninsula.

Key words. Alien species, invasive species, Republic of Crimea, quarantine pest, spreading.

ВВЕДЕНИЕ

Если заглянуть в историю, то на территории бывшего Советского Союза, по данным С.С. Ижевского (Ижевский, 1994), лишь в природных стациях насчитывалось свыше 80 видов завезенных фитофагов. За 30-летний период прошлого века (с 1950 по 1981 г.) было выявлено 7 новых вредных растительноядных насекомых, в том числе виды, до настоящего времени входящие в перечень карантинных: американская белая бабочка, восточная плодовая и картофельная моль. Некоторые чужеродные виды, не являясь активными фитофагами и не повреждая сильно кормовые растения, представляют угрозу как переносчики возбудителей болезней растений. Так, например, в Европе обосновались североамериканские цикадки *Metcalfa pruinosa* (Say, 1830) (рис. 1) и *Scaphoideus titanus* Ball, 1932, которые являются переносчиками возбудителей микоплазменных и вирусных болезней винограда (Ижевский, 1994).

В ходе ежегодных энтомологических исследований, проводимых на территории Крыма, регулярно выявляются чужеродные насекомые, представляющие угрозу сельскохозяйственным, декоративным и лесным культурам. Вследствие этого возникает интерес к изучению путей их проникновения и распространения, адаптационных особенностей и возможности массового размножения.

Поучительна история проникновения на территорию Российской Федерации опасного инвазивного насекомого – самшитовой огневки, или самшитовой гравянки. В Сочи она была завезена в 2012 г. из Италии с самшитом вечнозеленым шаровидной формы. В 2013 г. было зафиксировано ее массовое распространение и, как следствие, уничтожены реликтовые рощи самшита колхидского (Гниненко и др., 2014; Щуров и др., 2017). С 2014 г. этот вид представляет большую угрозу различным видам самшита в Крыму (рис. 2). Растения, широко использовавшиеся ранее для озеленения, при отсутствии защитных мероприятий погибают в течение одного вегетационного сезона. Сегодня в Крыму ландшафтные архитекторы предпочитают избегать применение в композициях самшита вечнозеленого, так как для его защиты от чужеродного фитофага приходится проводить не менее шести обработок против гусениц младших возрастов биопрепаратами на основе *Bacillus thuringiensis*. А это влечет за собой дополнительные затраты на уход за растениями. В Крыму самшитовая огневка встречается в местах произрастания кормовых растений, распространяясь, как правило, с посадочным материалом и путем активных перелетов.

Начиная с 2017 г. стремительно распространяется, но с помощью ветра, еще один чужеродный вид – дубовая кружевница. Этот фитофаг практически повсеместно вредит различным видам дубов (рис. 3), липе крупнолистной и другим

INTRODUCTION

If you look into history, on the territory of the former Soviet Union, according to S.S. Izhevskii (Izhevskii, 1994), there were more than 80 species of introduced phytophages in natural habitats. Over the 30-year period of the last century (from 1950 to 1981), 7 new harmful herbivorous insects were detected, including species that are still included in the quarantine list: *H. cunea* (Drury), *G. molesta* (Busck), and *P. operculella* (Zeller). Some alien species, not being active phytophages and not strongly damaging host plants, pose a threat as vectors of plant pathogens. For example, in Europe there are *Metcalfa pruinosa* (Say, 1830) (Fig. 1) and *Scaphoideus titanus* Ball, 1932, which are vectors of mycoplasma and viral diseases of grapes (Izhevsk, 1994).

In the course of annual entomological studies conducted on the territory of the Crimea, alien insects are regularly detected that pose a threat to agricultural, ornamental and forest crops. As a result, there is interest in studying their pathways and spreading, adaptive abilities and the possibility of mass reproduction.

The history of the introduction of a dangerous invasive insect into the territory of the Russian Federation is quite instructive – *C. perspectalis*. It was introduced into Sochi from Italy in 2012 with the common spherical boxwood. In 2013, its mass spreading was recorded and, as a result, relict groves of *Buxus colchica* were destroyed (Gninenko et al., 2014; Shchurov et al., 2017). Since 2014, this species has been a major threat to various boxwood species in the Crimea (Fig. 2). Plants that were widely used earlier for landscaping, in the absence of protective measures, die within one growing season. Today in the Crimea, landscape architects prefer to avoid the use of the common boxwood in compositions, because to protect it from an alien phytophage, it is necessary to carry out at least six treatments against younger caterpillars with biological preparations based on *Bacillus thuringiensis*. This entails additional costs for plant care. In the Crimea, *C. perspectalis* is found in places where host plants grow, spreading, as a rule, with planting material and by active flights.



Рис. 1. Имаго и личинки белой цикадки на поврежденном побеге, п. г. т. Аграрное, г. Симферополь, 2020 г. (фото Н.М. Стрюковой)

Fig. 1. Imagoes and larvae of *Metcalfa pruinosa* on a damaged shoot, Agrarnoye, Simferopol, 2020 (photo by N.M. Stryukova)

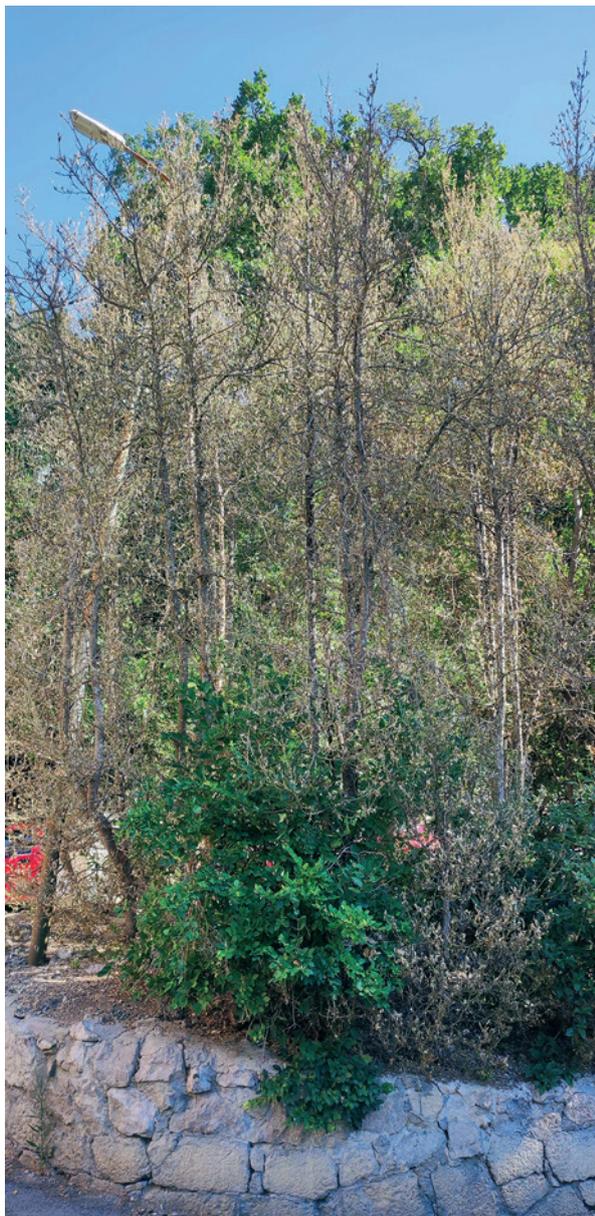


Рис. 2. Поврежденные самшитовой огневкой растения в г. Алушке, 2022 г. (фото Н.М. Стрюковой)

Fig. 2. Plants damaged by *Cydalima perspectalis* in Alupka, 2022 (photo by N.M. Stryukova)

растениям, но может причинять беспокойство и человеку. Местные жители и гости полуострова отмечают укулы, наносимые хоботками этих крошечных клопов, при сносе их порывами ветра с кормовых растений на людей.

В парках, садах и на частных подворьях Южного берега Крыма наблюдается нарастание численности чрезвычайно плодovитого и вредоносного чужеродного насекомого – австралийского желобчатого червеца *Icerya purchasi* Maskell, 1879. В последние годы крымские специалисты в области ландшафтной архитектуры, защиты растений, работники Министерства сельского хозяйства Республики Крым и просто неравнодушные крымчане бьют тревогу. По нашим наблюдениям, в парках и на улицах г. Ялты, г. Алупки ицерия привела к гибели ряд декоративных культур (рис. 4), что согласуется с данными Н.Н. Трикоз (Трикоз, 2017).

Полученные в результате многолетних наблюдений данные имеют практическую значимость для специалистов в области защиты растений

Since 2017, another alien species has been rapidly spreading, but with the help of the wind, *C. arcuata*. This phytophage harms various oak species almost everywhere (Fig. 3), large-leaved linden and other plants, but can also cause concern to humans. Local residents and guests of the peninsula note the injections inflicted by the proboscises of these tiny bugs, when they are carried by gusts of wind from food plants to people.

In parks, gardens and private courtyards of the southern coast of Crimea, an increase in the number of an extremely prolific and harmful alien insect is observed – *Icerya purchasi* Maskell, 1879. In recent years, Crimean specialists in the field of landscape architecture, plant protection, employees of the Ministry of Agriculture of the Republic of Crimea and simply caring Crimeans have been concerned. According to our observations, in the parks and on the streets of Yalta and Alupka, *I. purchasi* led to the death of a number of ornamental crops (Fig. 4), which is consistent with the data of N.N. Trikoz (Trikoz, 2017).

The data obtained as a result of long-term observations are of practical importance for specialists in the field of plant protection in agriculture, landscape gardening and forestry for competent planning and implementation of protective measures in order to regulate the number of harmful phytophages in the outbreaks. Only knowing the enemy and relying on the biological characteristics of each specific species, it is possible to predict the appearance of a phytophage in plantations in various phases of development and, taking this into account, plan the release of entomophages or conduct treatments with biological or chemical preparations.

MATERIALS AND METHODS

A preliminary survey was carried out visually in the green spaces of the Republic of Crimea using the reconnaissance method. At the same time, the general phytosanitary state of plants was noted, the nature and degree of damage to plants by alien insect species, as well as the presence of egg, larvae, pupae and imagoes were assessed visually.

In 2021 and 2022 there were surveys of plantings in the city of Simferopol and the Simferopol district, in the Bakhchysarai region, in the city of Evpatoria, Yalta, Alupka, Partenit, Foros, Sevastopol, Nizhnegorsky district, covering the foothill, partly mountainous and steppe zones of Crimea, the southern coast of Crimea and partly the Western coast of the Black Sea (Fig. 5).

The object of the study was alien insects that harm agricultural, ornamental and forest crops.

Larvae of some species were reared for subsequent identification, for example, seed beetles (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae), developing in the seeds of woody plants of this family Fabaceae, which are widely used for landscape architecture. The fruits of *Laburnum*, *Albizia*, *Gymnocladus*, *Cladrastis*, *Gleditsia*, *Cercis* were collected from September 2021 to April 2022, placing them in glass and plastic containers of different volumes, closed with gas, to monitor the emergence of imagoes in laboratory conditions.

The collection and processing of the material was carried out according to the generally accepted methods

сельского, садово-паркового и лесного хозяйств для грамотного планирования и осуществления защитных мероприятий с целью регулирования численности вредных фитофагов в очагах. Только зная врага в лицо и опираясь на биологические особенности каждого конкретного вида, можно прогнозировать появление в насаждениях фитофага в различных фазах развития и, учитывая это, планировать выпуск энтомофагов или проведение обработок биологическими либо химическими препаратами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Предварительное обследование проводили визуально в зеленых насаждениях Республики Крым рекогносцировочным методом. При этом отмечалось общее фитосанитарное состояние растений, глазомерно оценивались характер и степень повреждения растений чужеродными видами насекомых, а также наличие кладок яиц, личинок, куколок и имаго.

В 2021 и 2022 гг. провели обследования насаждений в г. Симферополе и Симферопольском районе, в Бахчисарайском р-не, в г. Евпатории, г. Ялте, г. Алушке, п. г. т. Партенит, п. г. т. Форос, в г. Севастополе, Нижнегорском р-не, охватывая предгорную, частично горную и степную зоны Крыма, Южный берег Крыма и частично Западное побережье Черного моря (рис. 5).

Объектом исследования выступали чужеродные насекомые, наносящие вред сельскохозяйственным, декоративным и лесным культурам.

Личинок некоторых видов доразвивали для проведения последующей идентификации, к примеру жуков-зерновок (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae), развивающихся в семенах древесных растений семейства Fabaceae, которые широко используются для озеленения объектов ландшафтной архитектуры. Плоды лабурнума, альбиции, бундука, кладрастиса, гледичии, багрянника собирали с сентября 2021 г. по апрель 2022 г., помещая их



Рис. 3. Обесцвечивание листьев дуба черешчатого клопом дубовой кружевницей, Ботанический сад им. Н.В. Багрова, г. Симферополь, 2021 г. (фото Н.М. Стрюковой)

Fig. 3. Discoloration of the leaves of English oak with *Corythucha arcuata*, N.V. Bagrov Botanical Garden, Simferopol, 2021 (photo by N.M. Stryukova)

of faunistic research: route collection, mowing with an entomological net over herbaceous and tree-shrub vegetation, shaking off insects on a canopy of dense tissue, and removal from plant material. Photographs were taken with a Canon EOS 77D digital camera.

The identification of invasive species was carried out using scientific publications from specialized resources and a database to identify various groups of insects (Maslyakov, Izhevsky, 2011; <https://gd.eppo.int>; <https://www.researchgate.net>; <http://www.sevin.ru>; <https://www.gbif.org>; <https://ukrbn.com>; <http://macroid.ru>).

RESULTS AND DISCUSSION

In this section, within the framework of studies of invasive entomofauna, the results of our own long-term observations for the period from 2007 to 2022 are presented. On the territory of the Republic of Crimea, we have identified 37 species of invasive insects from six orders. Most of the species belong to the orders Hemiptera (16 species, or 43.24%) and Lepidoptera (12 species, or 32.43%). Significantly fewer species belonged to other orders: 5 species from the order Coleoptera, 2 species from the order Diptera and one species from the orders Hymenoptera and Thysanoptera (13.52; 5.41; 2.7 and 2.7%, respectively) (Fig. 6).

Below is a list of species, including information on damaged crops, the nature of the damage, the harmful phase of the insect, as well as the area and year of the first detection (Table 1). The species included in the Common List of Quarantine Objects of the EAEU are marked (<https://vniikr.ru/dokumenty/epko-eaes/>).

Out of 37 species of alien insects found during phytosanitary monitoring of agricultural, forest and ornamental plantations, 14 species are included in the Common List of Quarantine Objects of the EAEU: *Quadraspidiotus perniciosus* Comst., *Lopholeucaspis japonica* Ckll., *Ceroplastes japonicus* Green, *Halyomorpha halys* Stål, *Leptoglossus occidentalis* Heidemann, *Corythucha arcuata* Say, *Corythucha ciliata* Say, *Frankliniella occidentalis* Pergande, *Daktulosphaira vitifoliae* Fitch, *Grapholita molesta*



Рис. 4. Колония австралийского желобчатого червеца *Icerya purchasi* на питтоспоруме Тобира, г. Ялта, 2019 г. (фото Н.М. Стрюковой)

Fig. 4. Colony of *Icerya purchasi* on *Pittosporum tobira*, Yalta, 2019 (photo by N.M. Stryukova)

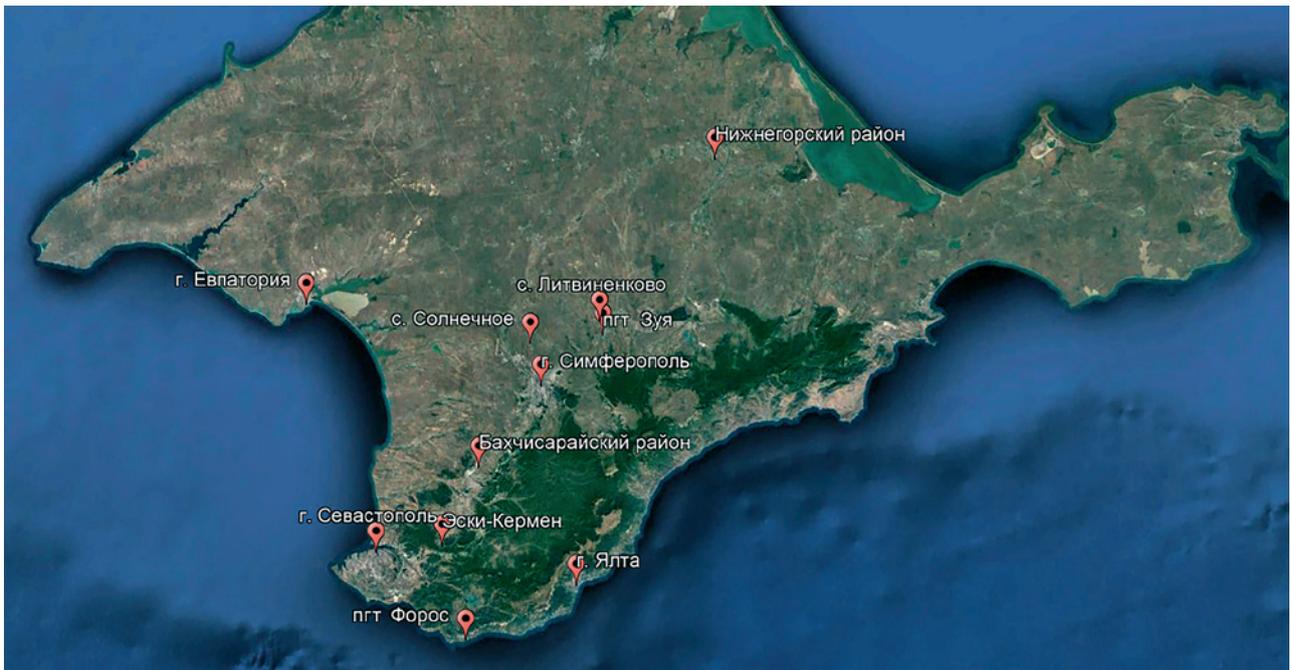


Рис. 5. Карта обнаружения чужеродных насекомых, 2021–2022 гг. Fig. 5. Alien insect detection map, 2021–2022

в стеклянные и пластиковые емкости разного объема, закрытые газом, для наблюдения за выходом имаго в лабораторных условиях.

Сбор и обработку материала проводили по общепринятым методикам фаунистических исследований: маршрутный сбор, кошение энтомологическим сачком по травянистой и древесно-кустарниковой растительности, отряхивание насекомых на полог из плотной ткани, выведение из растительного материала. Фотосъемку проводили при помощи цифровой фотокамеры Canon EOS 77D.

Идентификацию инвазивных видов проводили, используя научные публикации из специализированных ресурсов и базы данных для определения различных групп насекомых (Масляков, Ижевский, 2011; <https://gd.eppo.int>; <https://www.researchgate.net>; <http://www.sevin.ru>; <https://www.gbif.org>; <https://ukrbn.com>; <http://macroid.ru>).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данном разделе в рамках исследований инвазивной энтомофауны представлены результаты собственных многолетних наблюдений за период с 2007 по 2022 г. На территории Республики Крым нами было выявлено 37 видов инвазивных насекомых из шести отрядов. Большая часть видов относится к отрядам Hemiptera (16 видов, или 43,24%) и Lepidoptera (12 видов, или 32,43%). Значительно меньше видов принадлежало к другим отрядам: 5 видов из отр. Coleoptera, 2 вида из отр. Diptera и по одному виду из отр. Hymenoptera и Thysanoptera (13,52; 5,41; 2,7 и 2,7% соответственно) (рис. 6).

Ниже приведен перечень видов, который включает в себя информацию о повреждаемых культурах, характере повреждения, вредящей фазе насекомого и в котором указаны район и год первого обнаружения (табл. 1). Отмечены виды, включенные в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС (<https://vniikr.ru/dokumenty/epko-eaes/>).

Busck, *Hyphantria cunea* Drury, *Phthorimaea operculella* Zeller, *Tuta absoluta* Meyrick and *Chrysodeixis chalcites* Esper.

Table 2 shows a list of quarantine phytosanitary zones established in the Republic of Crimea and the city of Sevastopol in 2015–2022: 9 species of quarantine insects in the republic and 8 in the city of Sevastopol.

The largest area of quarantine phytosanitary zones was established in the Republic of Crimea for three quarantine harmful insects – *Hyphantria cunea* Drury, *Halyomorpha halys* Stål and *Corythucha arcuata* Say (370,094.07, 197,362.0 and 50,450.363 ha, respectively). In the city of Sevastopol, the largest area of quarantine phytosanitary zones was established for *Halyomorpha halys* Stål, *Hyphantria cunea* Drury and *Corythucha arcuata* Say (26,770.0, 14,476.3, and 3,217.0, respectively). Of the four quarantine species, two were introduced into the peninsula relatively recently, in 2017 and 2018.

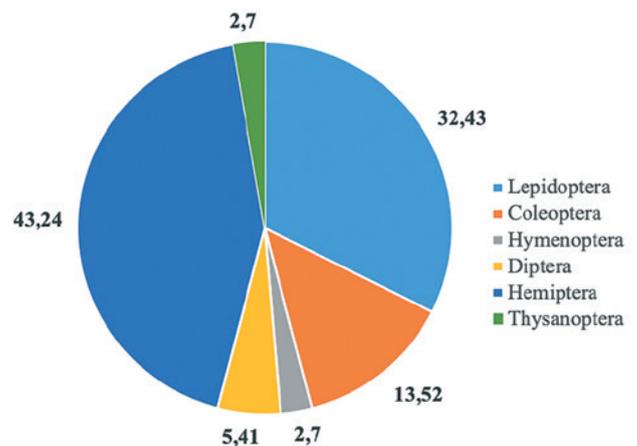


Рис. 6. Соотношение чужеродных видов по отрядам Fig. 6. Ratio of alien species by orders

Таблица 1
Карантинные и некарантинные чужеродные виды насекомых,
обнаруженные в Республике Крым в годы исследований (с 2007 по 2022 г.)

Название насекомого	Повреждаемые культуры (согласно наблюдениям авторов)	Характер питания насекомого и вредящая фаза	Виды, включенные в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС	Район и год обнаружения в Крыму
DIPTERA: CECIDOMYIIDAE				
Галлица гледичиевая <i>Dasineura gleditchiae</i> (Osten Sacken, 1866)	гледичия трехколочковая	личинки повреждают молодые побеги. Галлы формируются из нераспустившихся листьев	–	повсеместно в местах произрастания кормового растения, 2008 г. (Стрюкова, 2016)
Белоакациевая листовая галлица <i>Obolodiplosis robiniae</i> (Haldeman, 1847)	робиния псевдоакация	личинки повреждают листья. Минирование	–	повсеместно в местах произрастания кормового растения, 2008 г. (Стрюкова, 2016)
HYMENOPTERA: ARGIDAE				
Ильмовый пилильщик-зигзаг <i>Aproceros leucopoda</i> Takeuchi, 1939	ильм, или вяз шершавый	ложногусеницы повреждают листья. Фигурное объедание	–	г. Симферополь, Ботсад им. Н.В. Багрова, 2016 г. (Стрюкова, 2016)
LEPIDOPTERA				
GRACILLARIIDAE: LITHOCOLLETINAE				
Каштановая минирующая моль, или охридский минер, <i>Cameraria ohridella</i> Deschka and Dimič, 1986	каштан конский обыкновенный	гусеницы повреждают листья. Минирование	–	повсеместно в местах произрастания кормового растения, в конце 90-х гг. XX века (Стрюкова, 2016)
Платановая моль <i>Phyllonorycter platani</i> (Staudinger, 1870)	платан восточный, или чинара	гусеницы повреждают листья. Минирование	–	повсеместно в местах произрастания кормового растения, 2021 г. В Крыму отмечена с 2004 г. (Будашкин, 2004; Будашкин и др., 2004).
Робиниевая нижнесторонняя минирующая моль, или белоакациевый минер, <i>Macrosaccus robiniella</i> (Clemens, 1859)	робиния псевдоакация	гусеницы повреждают листья. Минирование	–	повсеместно в местах произрастания кормового растения, с 2019 г.
Липовая моль-пестрянка <i>Phyllonorycter issikii</i> (Kumata, 1963)	липа крупнолистная, липа сердцевидная	гусеницы повреждают листья. Минирование. 2 поколения	–	г. Симферополь, Ботсад им. Н.В. Багрова, 2021 г. Впервые указана в Крыму в р-не села Краснолесье Симферопольского р-на в 2017 г. (Савчук, Кайгородова, 2017)
GRACILLARIIDAE: ORNIXOLINAE				
Робиниевая верхнесторонняя минирующая моль <i>Paractopa robiniella</i> Clemens, 1863	робиния псевдоакация	гусеницы повреждают листья. Минирование	–	повсеместно в местах произрастания кормового растения, 2008 г. (Стрюкова, 2016)
GELECHIIDAE: GNORIMOSCHEMINI				
Моль картофельная <i>Phthorimaea operculella</i> (Zeller, 1873)	картофель	гусеницы. Листья и плоды. Минирование	ЕАЭС II	овощной участок, г. Симферополь, п. г. т. Аграрное, 2021 г. Впервые указана в Крыму в 1981 г. (Государственной службе по карантину растений по АР Крым 70 лет, 2004)
Моль южноамериканская томатная <i>Tuta absoluta</i> (Meyrick, 1917)	томат	гусеницы. Листья и плоды. Минирование	ЕАЭС I	теплица, ЛПХ, Белогорский р-н, 2021 г., Нижнегорский р-н, 2022 г. Впервые обнаружена в России в 2010 г. (Масляков, Ижевский, 2011)
NOCTUIDAE				
Золотистая двухпятнистая совка <i>Chrysodeixis chalcites</i> (Esper, 1789)	культуру указать невозможно, так как бабочки отловлены в феромонные ловушки, размещенные в лесополосе	гусеницы. Повреждают листья, стебли и плоды, широкий спектр культурных и диких растений	ЕАЭС II	г. Симферополь, п. г. т. Аграрное, 2021 г. Ранее в Крыму вид был обнаружен в 2011 г. (Бидычак и др., 2011)

Таблица 1. Продолжение

Название насекомого	Повреждаемые культуры (согласно наблюдениям авторов)	Характер питания насекомого и вредящая фаза	Виды, включенные в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС	Район и год обнаружения в Крыму
TORTRICIDAE				
Восточная плодожорка <i>Grapholita molesta</i> (Busck, 1916)	персик	гусеницы. Побеги и плоды. Минирование	ЕАЭС II	Бахчисарайский р-н, плодовый сад, 2021 г. Впервые указана в Крыму в 1976 г. (Государственной службе по карантину растений по АР Крым 70 лет, 2004)
ARCTIIDAE				
Американская белая бабочка <i>Hyalphantria cunea</i> (Drury, 1773)	клен ясенелистный, грецкий орех	гусеницы. Листья. Скелетирование	ЕАЭС II	г. Симферополь, село Трудовое, 2021 г., лесополоса. Впервые указана в Крыму в 1968 г. (Государственной службе по карантину растений по АР Крым 70 лет, 2004)
CRAMBIDAE				
Самшитовая огневка <i>Cydalima perspectalis</i> (Walker, 1859)	самшит вечнозеленый	листья. Гусеницы младших возрастов – скелетирование, старших – грубое объедание	–	повсеместно в местах произрастания кормового растения, 2014 г. (Стрюкова, Стрюков, 2015)
CASTNIIDAE				
Пальмовый мотылек <i>Paysandisia archon</i> (Burmeister, 1880)	трахикарпус Форчуна	гусеница. Листья, древесина	–	Южный берег Крыма, г. Ялта, г. Алупка, п. г. т. Симеиз, с 2018 г. (Стрюкова, Стрюков, 2020b)
COLEOPTERA				
COCCINELLIDAE				
Азиатская божья коровка <i>Harmonia axyridis</i> (Pallas, 1773). Морфы (по Балуховой, 2010): <i>succinea</i> (SUC) <i>spectabilis</i> (SPC)	катальпа бигнониевидная, гибискус сирийский, груша обыкновенная (сорт Бере Боск), сорта розы гибридной	хищничает в колониях тли	–	г. Симферополь, Симферопольский р-н, Белогорский р-н, Южный берег Крыма, с 2013 г. (Стрюкова, 2016)
CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE				
<i>Megabruchidius dorsalis</i> (Fähræus, 1839)	гимнокладус двудомный, или бундук канадский, или кентуккийское кофейное дерево, гледичия трехколючковая	личинки и имаго повреждают бобы	–	Ботсад им. Н.В. Багрова, 2021 г. В 2014 г. была обнаружена в г. Симферополе и п. г. т. Никита на гледичии трехколючковой (Мартынов, Никулина, 2016)
<i>Bruchidius terrenus</i> (Sharp, 1886)	альбиция ленкоранская, или ленкоранская акация	личинки повреждают семена	–	г. Симферополь, Ботсад им. Н.В. Багрова, 2021 г. В 2017 г. вид впервые для фауны России был обнаружен в Крыму на гледичии (Martynov et al., 2018)
<i>B. siliquastris</i> Delobel, 2007	церцис европейский, или багрянник европейский	личинки повреждают семена	–	п. г. т. Партенит, парк «Айвазовское», 2021–2022 гг. В 2015 г. впервые для фауны Крыма был обнаружен В.В. Мартыновым и Т.В. Никулиной в Крыму на растениях рода <i>Cercis</i> (Мартынов, Никулина, 2015)
CHRYSOMELIDAE: CHRYSOMELINAE				
Розмариновый листоед <i>Chrysolina (Taeniochrysea) americana</i> (Linnaeus, 1758)	розмарин лекарственный, или розмарин обыкновенный	имаго грубо объедает листья и цветки	–	Южный берег Крыма, в местах произрастания кормового растения, с 2013 г.
HEMIPTERA				
PHYLLOXERIDAE				
Филлоксеры <i>Viteus vitifoliae</i> (Fitch, 1855)	на подвоях винограда Берландиери х Рипариа Кобер 5ББ	листья. Личинки. Галлы на нижней стороне листа	ЕАЭС II	опытный виноградный участок, г. Симферополь, п. г. т. Аграрное, 2021 г. В Крыму с 1962 г. (Государственной службе по карантину растений по АР Крым 70 лет, 2004)

Таблица 1. Продолжение

Название насекомого	Повреждаемые культуры (согласно наблюдениям авторов)	Характер питания насекомого и вредящая фаза	Виды, включенные в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС	Район и год обнаружения в Крыму
COCCOIDEA: DIASPIDIDAE, COCCIDAE				
Японская палочковидная щитовка <i>Lopholeucaspis japonica</i> (Cockerell, 1897)	роза гибридная, робиния псевдоакация, ясень обыкновенный, вяз <i>Ulmus</i> sp.	листья, побеги. Самки, личинки. Изменение окраски	ЕАЭС II	г. Севастополь, в районе Большой Морской улицы и прилегающих улиц, с 2019 г. (Стрюкова, Стрюков, 2020b) По устным сообщениям, ранее были обнаружения в г. Севастополе
Калифорнийская щитовка <i>Quadraspidiotus perniciosus</i> (Comstock, 1869)	яблоня сорта Ренет Симиренко	на побегах. Самки, личинки. Изменение окраски. Усыхание побегов	ЕАЭС II	заброшенный яблоневый сад, село Солнечное, Симферопольский р-н, 2021 г. В Крыму с 1960 г. (Государственной службе по карантину растений по АР Крым 70 лет, 2004)
Японская восковая ложнощитовка <i>Ceroplastes japonicus</i> Green, 1921	хурма восточная, платан восточный	листья, побеги. Самки, личинки. Изменение окраски	ЕАЭС II	г. Ялта, с 2015 г. (Стрюкова, 2016)
Индийская восковая ложнощитовка <i>Ceroplastes ceriferus</i> (Fabricius, 1798)	клен дланевидный, ива козья	побеги. Самки, личинки. Изменение окраски	–	г. Симферополь, г. Евпатория, с 2019 г. (Стрюкова, Стрюков, 2020b)
PSEUDOCOCCIDAE				
Мучнистый калиновый червец <i>Pseudococcus viburni</i> (Signoret, 1875)	калина лавролистная	личинки и самки. На побегах, соцветиях и плодоножках	–	г. Ялта, п. г. т. Никита, Никитский ботанический сад, 2018 г. (Гура и др., 2019)
MONOPHLEBIDAE: MONOPHLEBINAE				
Австралийский желобчатый червец <i>Icerya purchasi</i> Maskell, 1879	питтоспорум Тобира, трахикарпус Форчуна, альбиция ленкоранская и др. культуры	побеги. Самки, личинки. Изменение окраски. Гибель растения	–	Южный берег Крыма, в местах произрастания кормового растения, с 2019 г. По данным Н.Н. Трикоз, с 2010 г. (Трикоз, 2017)
PSYLLIDAE				
Альбициевая (мимозная) листовлошка <i>Acizzia jamaicensis</i> (Kuwayama, 1908)	альбиция ленкоранская, или ленкоранская акация	листья. Имаго, личинки. Соцветия, плоды. Изменение окраски. На медвяной росе поселяются сажистые грибы. Снижается декоративность растения	–	г. Симферополь и Симферопольский р-н, г. Ялта, п. г. т. Форос, г. Севастополь, с 2011 г. (Стрюкова, Стрюков, 2012; Стрюкова, 2016)
PENTATOMIDAE				
Коричнево-мраморный клоп <i>Halyomorpha halys</i> (Stål, 1855)	катальпа бигнониевидная	листья, плоды. Имаго, личинки. Изменение окраски, некроз	ЕАЭС I	г. Симферополь, Симферопольский р-н, г. Ялта, г. Керчь, г. Севастополь, с 2018 г. (Стрюкова, Стрюков, 2019)
Южный зеленый щитник <i>Nezara viridula</i> (Linnaeus, 1758)	амарант, или щирица метельчатая, гибискусу сирийский	листья, бутоны, плоды. Имаго, личинки. Изменение окраски	–	г. Симферополь, Ботсад им. Н.В. Багрова, с 2018 г. (Стрюкова, Стрюков, 2020b)
LYGAEIDAE				
Клоп <i>Oxycarenus lavaterae</i> (Fabricius, 1787)	гибискус сирийский, липа крупнолистная	питаются на бутонах и в семенных коробочках гибискуса. Большие скопления перед зимовкой отмечены на коре липы. Кладки яиц обнаружены в старых минах липовой моли-пестрянки	–	Нижнегорский р-н, г. Симферополь, Ботсад им. Н.В. Багрова, с 2020 г. (Стрюкова, Стрюков, 2020b; Стрюкова, Стрюков, 2021)
COREIDAE				
Сосновый семенной клоп <i>Leptoglossus occidentalis</i> Heidemann, 1910	сосна крымская	имаго, личинки. Питаются соками растения, на побегах и шишках	ЕАЭС I	повсеместно в местах произрастания кормового растения, 2021 г. В Крыму с 2010 г. (Гапон, 2012)

Таблица 1. Продолжение

Название насекомого	Повреждаемые культуры (согласно наблюдениям авторов)	Характер питания насекомого и вредящая фаза	Виды, включенные в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС	Район и год обнаружения в Крыму
<i>Gonocerus juniperi</i> Herrich-Schaeffer, 1839	туя западная сорта Смарагд, можжевельник горизонтальный (форма сизая), кипарис вечнозеленый	личинки и имаго питаются соками растения, на побегах и шишках	–	впервые сообщение о находке в Крыму из г. Евпатории: А. Шеховцов, 2007 г. (https://ukrbn.com); в г. Симферополе, по нашим наблюдениям, с 2016 г. Встречается редко
TINGIDAE				
Клоп платановая кружевница <i>Corythucha ciliata</i> (Say, 1832)	платан восточный	личинки и имаго повреждают листья. Изменение окраски	ЕАЭС II	повсеместно в местах произрастания кормовых растений рода <i>Platanus</i> , с 2007 г. (Стрюкова, 2009; Стрюкова, 2014)
Дубовая кружевница <i>C. arcuata</i> (Say, 1832)	дуб черешчатый, липа крупнолистная	личинки и имаго повреждают листья. Изменение окраски	ЕАЭС I	повсеместно в местах произрастания кормовых растений рода <i>Quercus</i> , с 2017 г. (Стрюкова и др., 2019)
FLATIDAE				
Цикадка белая, или цикадка цитрусовая, <i>Metcalfa pruinosa</i> (Say, 1830)	фундук, кизил, виноград, калина, смородина, малина, розы, гортензия, плющ, гибискус, вейгела, калистегия, пион, хризантема, бруннера, рудбекия, розмарин, смородина, анемона японская, аквилегия, базилик, традесканция, липа крупнолистная хосты, герань, вербейник, буквица	личинки и имаго повреждают листья и побеги. Изменение окраски, растрескивание коры. Вследствие питания на растении остаются белые восковые нити. На каплях медвяной росы поселяются сажистые грибы цветоносы	–	г. Симферополь, Симферопольский р-н, с 2018 г. (Стрюкова, Стрюков, 2020а; Стрюкова, Стрюков, 2020b)
THYSANOPTERA: THRIPIDAE				
Западный цветочный (калифорнийский) трипс <i>Frankliniella occidentalis</i> (Pergande, 1895)	томат	личинки и имаго повреждают листья, плоды. Изменение окраски в виде серебристых штриховатых участков	ЕАЭС II	теплица, ЛПХ, Белогорский р-н, 2021 г. В России выявлен в теплицах в конце 1980-х – начале 1990-х гг. (Иванова, Великань, 1991)

**Table 1
Quarantine and non-quarantine alien insect species detected in the Republic of Crimea during the years of research (from 2007 to 2022)**

Insect name	Damaged crops (according to the authors' observations)	The nature of the nutrition of the insect and the harmful phase	Species included in the Common List of Quarantine Objects of the EAEU	Area and year of detection in Crimea
DIPTERA: CECIDOMYIIDAE				
<i>Dasineura gleditchiae</i> (Osten Sacken, 1866)	<i>Gleditsia triacanthos</i> L.	larvae damage young shoots. Galls form from unopened leaves	–	everywhere in host plant habitats, 2008 (Stryukova, 2016)
<i>Obolodiplosis robinae</i> (Haldeman, 1847)	<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	larvae damage the leaves. Mining	–	everywhere in host plant habitats, 2008 (Stryukova, 2016)
HYMENOPTERA: ARGIDAE				
<i>Aproceros leucopoda</i> Takeuchi, 1939	<i>Ulmus glabra</i> Huds.	false larvae damage leaves. Shape eating	–	Simferopol, N.V. Bagrov Botanical Garden, 2016 (Stryukova, 2016)
LEPIDOPTERA				
GRACILLARIIDAE: LITHOCOLLETINAE				
<i>Cameraria ohridella</i> Deschka and Dimič, 1986	<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	caterpillars damage leaves. Mining	–	everywhere in host plant habitats, in the late 90s of the XX century (Stryukova, 2016)

Table 1. Continue

Insect name	Damaged crops (according to the authors' observations)	The nature of the nutrition of the insect and the harmful phase	Species included in the Common List of Quarantine Objects of the EAEU	Area and year of detection in Crimea
<i>Phyllonorycter platani</i> (Staudinger, 1870)	<i>Platanus orientalis</i> L.	caterpillars damage leaves. Mining	–	everywhere in host plant habitats, 2021. Recorded in Crimea since 2004 (Budashkin, 2004; Budashkin et al., 2004).
<i>Macrosaccus robiniella</i> (Clemens, 1859)	<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	caterpillars damage leaves. Mining	–	everywhere in host plant habitats, since 2019
<i>Phyllonorycter issikii</i> (Kumata, 1963)	<i>Tilia platyphyllos</i> Scop., <i>Tilia cordata</i> Mill.	caterpillars damage leaves. Mining. 2 generations	–	Simferopol, N.V. Bagrov Botanical Garden, 2021. First recorded in the Crimea near the village of Krasnolesye, Simferopol district in 2017 (Savchuk, Kaigorodova, 2017)
GRACILLARIIDAE: ORNIXOLINAE				
<i>Parectopa robiniella</i> Clemens, 1863	<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	caterpillars damage leaves. Mining	–	everywhere in host plant habitats, 2008 (Stryukova, 2016)
GELECHIIDAE: GNORIMOSCHEMINI				
<i>Phthorimaea operculella</i> (Zeller, 1873)	<i>Solanum tuberosum</i> L.	caterpillars. Leaves and fruits. Mining	EAEU II	vegetable plot, Simferopol, Agrarnoe, 2021. First recorded in Crimea in 1981 (State Plant Quarantine Service of the Autonomous Republic of Crimea is 70 years old, 2004)
<i>Tuta absoluta</i> (Meyrick, 1917)	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	caterpillars. Leaves and fruits. Mining	EAEU I	greenhouse, household plot, Belogorsky district, 2021, Nizhnegorsky district, 2022. First discovered in Russia in 2010 (Maslyakov, Izhevsky, 2011)
NOCTUIDAE				
<i>Chrysodeixis chalcites</i> (Esper, 1789)	it is impossible to indicate the culture, because the moths were caught in pheromone traps placed in the forest belt	caterpillars. Damage leaves, stems and fruits, a wide range of cultivated and wild plants	EAEU II	Simferopol, Agrarnoye, 2021. Previously, the species was found in Crimea in 2011 (Bidychak et al., 2011)
TORTRICIDAE				
<i>Grapholita molesta</i> (Busck, 1916)	<i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	caterpillars. Shoots and fruits. Mining	EAEU II	Bakhchisaray district, orchard, 2021. First listed in the Crimea in 1976 (The State Plant Quarantine Service of the Autonomous Republic of Crimea is 70 years old, 2004)
ARCTIIDAE				
<i>Hyphantria cunea</i> (Drury, 1773)	<i>Acer negundo</i> L., <i>Juglans regia</i> L.	caterpillars. Leaves. Skeletization	EAEU II	Simferopol, the village of Trudovoye, 2021, lesopolosa. First listed in the Crimea in 1968 (The State Plant Quarantine Service of the Autonomous Republic of Crimea is 70 years old, 2004)
CRAMBIDAE				
<i>Cydalima perspectalis</i> (Walker, 1859)	<i>Buxus sempervirens</i> L.	leaves. Caterpillars of younger instars – skeletization, older ones – rough overeating	–	everywhere in host plant habitats, 2014 (Stryukova, Stryukov, 2015)
CASTNIIDAE				
<i>Paysandisia archon</i> (Burmeister, 1880)	<i>Trachycarpus fortunei</i>	caterpillar. Leaves, wood	–	Southern coast of Crimea, Yalta, Alupka, settlement Simeiz, since 2018 (Stryukova, Stryukov, 2020b)
COLEOPTERA				
COCCINELLIDAE				
<i>Harmonia axyridis</i> (Pallas, 1773). Morphs (according to Balueva, 2010): <i>succinea</i> (SUC) <i>spectabilis</i> (SPC)	<i>Catalpa bignonioides</i> Walter, <i>Hibiscus syriacus</i> L., <i>Pyrus communis</i> L. (Variety Bere Bosk), hybrid rose varieties	predation in aphid colonies	–	Simferopol, Simferopol district, Belogorsky district, Southern coast of Crimea, since 2013 (Stryukova, 2016)

Table 1. Continue

Insect name	Damaged crops (according to the authors' observations)	The nature of the nutrition of the insect and the harmful phase	Species included in the Common List of Quarantine Objects of the EAEU	Area and year of detection in Crimea
CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE				
<i>Megabruchidius dorsalis</i> (Fåhræus, 1839)	<i>Gymnocladus dioicus</i> (L.), <i>Gleditsia triacanthos</i> L.	larvae and adults damage beans	–	Bagrov Botanical Garden, 2021. In 2014, it was found in the city of Simferopol and the urban settlement of Nikita on <i>Gleditsia triacanthos</i> (Martynov, Nikulina, 2016)
<i>Bruchidius terrenus</i> (Sharp, 1886)	<i>Albizia julibrissin</i> Durazz.	larvae damage seeds	–	Simferopol, N.V. Bagrov Botanical Garden, 2021. In 2017, for the first time for the fauna of Russia, the species was found in the Crimea on honey locust (Martynov et al., 2018)
<i>B. siliquastris</i> Delobel, 2007	<i>Cercis siliquastrum</i> L.	larvae damage seeds	–	Urban settlement Partenit, Aivazovskoye park, 2021–2022. In 2015, V.V. Martynov and T.V. Nikulina in the Crimea on plants of the genus <i>Cercis</i> (Martynov and Nikulina, 2015)
CHRYSOMELIDAE: CHRYSOMELINAE				
<i>Chrysolina</i> (<i>Taeniochrysea</i>) <i>americana</i> (Linnaeus, 1758)	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	imago roughly eats leaves and flowers	–	Southern coast of Crimea, in host plant habitats, since 2013
HEMIPTERA				
PHYLLOXERIDAE				
<i>Daktulosphaira vitifoliae</i> (Fitch, 1855)	on rootstocks of grapes Berlandieri x Riparia Kober 5BB	leaves. Larvae. Galls on the underside of the leaf	EAEU II	Experimental vineyard plot, Simferopol, urban settlement Agrarnoye, 2021. In Crimea since 1962 (State Plant Quarantine Service of the Autonomous Republic of Crimea is 70 years old, 2004)
COCCOIDEA: DIASPIDIDAE, COCCIDAE				
<i>Lopholeucaspis japonica</i> (Cockerell, 1897)	hybrid rose, <i>Robinia pseudoacacia</i> L., <i>Fraxinus excelsior</i> L., <i>Ulmus</i> sp.	leaves, shoots. Females, larvae. Color change	EAEU II	Sevastopol, in the area of Bolshaya Morskaya Street and adjacent streets, since 2019 (Stryukova, Stryukov, 2020b). According to oral reports, earlier there were detections in Sevastopol
<i>Quadraspidiotus perniciosus</i> (Comstock, 1869)	apple tree variety Renet Simirenko	on shoots. Females, larvae. Color change. Drying of shoots	EAEU II	Abandoned apple orchard, Solnechnoye village, Simferopol district, 2021. In Crimea since 1960 (State Plant Quarantine Service of the Autonomous Republic of Crimea is 70 years old, 2004)
<i>Ceroplastes japonicus</i> Green, 1921	<i>Diospyros kaki</i> Thunb., <i>Platanus orientalis</i> L.	leaves, shoots. Females, larvae. Color change	EAEU II	Yalta, since 2015 (Stryukova, 2016)
<i>Ceroplastes ceriferus</i> (Fabricius, 1798)	<i>Acer palmatum</i> Thunb., <i>Salix caprea</i> L.	shoots. Females, larvae. Color change	–	Simferopol, Evpatoria, since 2019 (Stryukova, Stryukov, 2020b)
PSEUDOCOCCIDAE				
<i>Pseudococcus viburni</i> (Signoret, 1875)	<i>Viburnum tinus</i> L.	larvae and females. On shoots, inflorescences and stalks	–	Yalta, urban settlement Nikita, Nikitsky Botanical Garden, 2018 (Gura et al., 2019)
MONOPHLEBIDAE: MONOPHLEBINAE				
<i>Icerya purchasi</i> Maskell, 1879	<i>Pittosporum tobira</i> , <i>Trachycarpus fortunei</i> , <i>Albizia julibrissin</i> Durazz. and others	shoots. Females, larvae. Color change. plant death	–	The southern coast of Crimea, in host plant habitats, since 2019. According to N.N. Trikoz, since 2010 (Trikoz, 2017)
PSYLLIDAE				
<i>Acizzia jamatonica</i> (Kuwayama, 1908)	<i>Albizia julibrissin</i> Durazz.	leaves. Imagoes, larvae. Inflorescences, fruits. Color change. Sooty mushrooms grow on honeydew. Reduced decorativeness of the plant	–	Simferopol and Simferopol district, Yalta, Foros settlement, Sevastopol, since 2011 (Stryukova and Stryukov, 2012; Stryukova, 2016)

Table 1. Continue

Insect name	Damaged crops (according to the authors' observations)	The nature of the nutrition of the insect and the harmful phase	Species included in the Common List of Quarantine Objects of the EAEU	Area and year of detection in Crimea
PENTATOMIDAE				
<i>Halyomorpha halys</i> (Stål, 1855)	<i>Catalpa bignonioides</i> Walter	leaves, fruits. Imago, larvae. Discoloration, necrosis	EAEU I	Simferopol, Simferopol district, Yalta, Kerch, Sevastopol, since 2018 (Stryukova, Stryukov, 2019)
<i>Nezara viridula</i> (Linnaeus, 1758)	<i>Amaranthus</i> L., <i>Hibiscus syriacus</i> L.	leaves, buds, fruits. Imago, larvae. Color change	–	Simferopol, N.V. Bagrov Botanical Garden, since 2018 (Stryukova, Stryukov, 2020b)
LYGAEIDAE				
<i>Oxycarenus lavaterae</i> (Fabricius, 1787)	<i>Hibiscus syriacus</i> L., <i>Tilia platyphyllos</i> Scop.	feed on buds and in hibiscus seed pods. Large accumulations before wintering are noted on the linden bark. Ovipositions found in old mines of lime leaf miner	–	Nizhnegorsky district, Simferopol, N.V. Bagrov Botanical Garden, since 2020 (Stryukova and Stryukov, 2020b; Stryukova and Stryukov, 2021)
COREIDAE				
<i>Leptoglossus occidentalis</i> Heidemann, 1910	<i>Pinus nigra</i> subsp. <i>pallasiana</i> (Lamb.)	adults, larvae. They feed on plant juice, shoots and cones	EAEU I	everywhere in host plant habitats, 2021. In the Crimea since 2010 (Gapon, 2012)
<i>Gonocerus juniperi</i> Herrich-Schaeffer, 1839	<i>Thuja occidentalis</i> L. variety <i>Smaragd</i> , <i>Juniperus horizontalis</i> Moench, <i>Cupressus sempervirens</i> L.	adults, larvae. They feed on plant juice, shoots and cones	–	First reported in the Crimea from the city of Evpatoria: A. Shekhovtsov, 2007 (https://ukrbin.com); in Simferopol, according to our observations, since 2016. Rare
TINGIDAE				
<i>Corythucha ciliata</i> (Say, 1832)	<i>Platanus orientalis</i> L.	larvae and adults damage leaves. Color change	EAEU II	Everywhere in host plant habitats, the genus <i>Platanus</i> , since 2007 (Stryukova, 2009; Stryukova, 2014)
<i>C. arcuata</i> (Say, 1832)	<i>Quercus robur</i> L., <i>Tilia platyphyllos</i> Scop.	larvae and adults damage leaves. Color change	EAEU I	Everywhere in host plant habitats, the genus <i>Quercus</i> , since 2017 (Stryukova et al., 2019)
FLATIDAE				
<i>Metcalfa pruinosa</i> (Say, 1830)	<i>Corylus avellana</i> , <i>Cornus mas</i> L., <i>Vitis</i> L., <i>Viburnum opulus</i> L., <i>Ribes</i> L., <i>Rubus idaeus</i> L., <i>Rosa</i> L., <i>Hydrangea</i> L., <i>Hedera</i> L., <i>Hibiscus</i> L., <i>Weigela</i> Thunb., <i>Calystegia</i> R. Br., <i>Paeonia</i> L., <i>Chrysanthemum</i> L., <i>Brunnera</i> Stev., <i>Rudbeckia</i> L., <i>Rosmarinus officinalis</i> L., <i>Eriocapitella japonica</i> (Thunb.) Nakai, <i>Aquilegia</i> L., <i>Ocimum</i> L., <i>Tradescantia Ruppis</i> ex L., <i>Tilia platyphyllos</i> Scop.	larvae and adults damage leaves and shoots. Discoloration, cracking of the bark. As a result of nutrition, white wax threads remain on the plant. Sooty mushrooms settle on drops of honeydew	–	Simferopol, Simferopol district, since 2018 (Stryukova, Stryukov, 2020a; Stryukova, Stryukov, 2020b)
	<i>Hosta</i> Tratt., <i>Geranium</i> L., <i>Lysimachia</i> L., <i>Betonica officinalis</i> L.	flower spikes		
THYSANOPTERA: THRIPIDAE				
<i>Frankliniella occidentalis</i> (Pergande, 1895)	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	larvae and adults damage leaves and fruits. Color change in the form of silvery streaked areas	EAEU II	greenhouse, private household plot, Belogorsky district, 2021. In Russia, it was found in greenhouses in the late 1980s – early 1990s (Ivanova, Velikan, 1991)

Таблица 2
Перечень карантинных фитосанитарных зон, установленных в Республике Крым и г. Севастополе в 2015–2022 гг.¹

Table 2
List of quarantine phytosanitary zones established in the Republic of Crimea and Sevastopol in 2015–2022¹

№ п/п	Карантинный вид Quarantine species	Населенные пункты	Settlements	Карантинная фитосанитарная зона, га
				Quarantine phytosanitary zone, ha
		РЕСПУБЛИКА КРЫМ	REPUBLIC OF CRIMEA	
1	Американская белая бабочка <i>Huphantria cunea</i> Drury	- Бахчисарайский район - г. Армянск - г. Красноперекопск - городской округ Симферополь - Джанкойский район - Кировский район - Красногвардейский район - Красноперекопский район - Ленинский район - Нижнегорский район - Первомайский район - Раздольненский район - Сакский район - Симферопольский район - Советский район - Черноморский район - п. г. т. Красногвардейское	- Bakhchisaray district - Armyansk - Krasnoperekopsk - city district of Simferopol - Dzhankoy district - Kirovsky district - Krasnogvardeisky district - Krasnoperekopsky district - Leninsky district - Nizhnegorsky district - Pervomaisky district - Razdolnensky district - Saksy district - Simferopol district - Soviet district - Chernomorsky district - Krasnogvardeyskoye	370 094,07
2	Восточная плодоярка <i>Grapholita molesta</i> Busck	- Бахчисарайский район - Джанкойский район - Симферопольский район	- Bakhchisaray district - Dzhankoy district - Simferopol district	5 177,2
3	Западный цветочный (калифорнийский) трипс <i>Frankliniella occidentalis</i> Pergande	- Белогорский район - Симферопольский район	- Belogorsky district - Simferopol district	14,88
4	Картофельная моль <i>Phthorimaea operculella</i> Zeller	- Джанкойский район - Сакский район - Симферопольский район	- Dzhankoy district - Saksy district - Simferopol district	6 549,5
5	Южноамериканская томатная моль <i>Tuta absoluta</i> Meyrick	- Белогорский район - Сакский район	- Belogorsky district - Saksy district	32,8078 га 2 250 м ²
6	Коричнево-мраморный клоп <i>Halyomorpha halys</i> Stål	- Бахчисарайский район - г. Керчь - городской округ Симферополь - Симферопольский район - п. г. т. Ленино, Лениново сельское поселение, Ленинский район	- Bakhchisaray district - Kerch - city district of Simferopol - Simferopol district - Lenino, Leninovo rural settlement, Leninsky district	197 362,0
7	Клоп дубовая кружевница <i>Corythucha arcuata</i> Say	- городской округ Симферополь - Симферопольский район - городской округ Ялта	- city district of Simferopol - Simferopol district - city district of Yalta	50 450,363
8	Платановая кружевница <i>Corythucha ciliata</i> Say	- Бахчисарайский район - городской округ Ялта	- Bakhchisaray district - city district of Yalta	7 670,0
9	Калифорнийская щитовка <i>Quadraspidiotus perniciosus</i> Comst.	- Бахчисарайский район	- Bakhchisaray district	79,0
		г. СЕВАСТОПОЛЬ	SEVASTOPOL	
10	Клоп дубовая кружевница <i>Corythucha arcuata</i> Say	Балаклавский и Нахимовский МО ²	Balaklava and Nakhimovsky MD ²	1 376,0
11	Платановая кружевница <i>Corythucha ciliata</i> Say	г. Севастополь	Sevastopol	3 217,0
12	Коричнево-мраморный клоп <i>Halyomorpha halys</i> Stål	Нахимовский МО	Nakhimovsky MD	26 770,0
13	Сосновый семенной клоп <i>Leptoglossus occidentalis</i> Heidemann	г. Севастополь	Sevastopol	2 440,0
14	Филлоксера <i>Viteus vitifoliae</i> Fitch	Нахимовский р-н	Nakhimovsky district	1 030,0
15	Американская белая бабочка <i>Huphantria cunea</i> Drury	г. Севастополь	Sevastopol	14 476,3
16	Восточная плодоярка <i>Grapholita molesta</i> Busck	Качинский МО Верхнесадовский МО	Kachinsky MD Verkhnesadovsky MD	240,8
17	Картофельная моль <i>Phthorimaea operculella</i> Zeller	г. Севастополь	Sevastopol	19,0

¹ Согласно данным, размещенным на официальном сайте Россельхознадзора 26 мая 2022 г. (<https://fsvps.gov.ru>).

² МО – муниципальный округ.

¹ According to data posted on the official website of the Rosselkhozadzor on May 26, 2022. (<https://fsvps.gov.ru>).

² MD – municipal district.

Из 37 видов чужеродных насекомых, обнаруженных в ходе фитосанитарного мониторинга сельскохозяйственных, лесных и декоративных насаждений, 14 видов включены в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС: калифорнийская и японская палочковидная щитовки, японская восковая ложнощитовка, коричнево-мраморный клоп, сосновый семенной клоп, дубовая и платановая кружевницы, западный цветочный трипс, филлоксеры, восточная плодожорка, американская белая бабочка, картофельная моль, южноамериканская томатная моль и золотистая двухпятнистая совка.

В таблице 2 приведен список карантинных фитосанитарных зон, установленных в Республике Крым и г. Севастополе в 2015–2022 гг.: 9 видов карантинных насекомых по республике и 8 – по г. Севастополю.

Наибольшая площадь карантинных фитосанитарных зон установлена в Республике Крым по трем карантинным вредным насекомым – американской белой бабочке, коричнево-мраморному клопу и клопу дубовой кружевнице (370 094,07, 197 362,0 и 50 450,363 га соответственно). В г. Севастополе наибольшая площадь карантинных фитосанитарных зон установлена по коричнево-мраморному клопу, американской белой бабочке и клопу платановой кружевнице (26 770,0, 14 476,3 и 3 217,0 соответственно). Из четырех карантинных видов два проникли на полуостров сравнительно недавно – в 2017 и 2018 гг.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проникновение ряда чужеродных видов на территорию Республики Крым, их стремительное размножение и распространение на полуострове требуют проведения ежегодных детальных обследований территорий с целью изучения современного состояния популяций, а также разработки и проведения защитных мероприятий для новых и уже имеющих очагов вредителей.

Благодарность. Авторы выражают благодарность ведущему научному сотруднику Ростовского филиала ФГБУ «ВНИИКР» Д.Г. Касаткину за подтверждение определенных нами видов зерновок.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балужева Е., 2010. Популяционная структура и экологические особенности разных морф *Harmonia axyridis* Pall. (Coleoptera, Coccinellidae). Автореф. дисс. на соиск. уч. степ. канд. биол. наук, Санкт-Петербург, 19 с.
2. Бидычак Р., Дронов А., Хаверинен Р., 2011. Новые находки совок (Noctuidae s. l.) в Крыму. – Эверсманния. Энтомологические исследования в России и соседних регионах, вып. 25–26: 81–86.
3. Будашкин Ю., 2004. Итоги двадцатилетнего стационарного изучения фауны чешуекрылых (Lepidoptera) Карадагского природного заповедника. – В кн.: Карадаг. История, геология, ботаника, зоология. Сборник научных трудов, посвященный 90-летию Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского и 25-летию Карадагского природного заповедника НАН Украины. Книга 1-я: 323–366.
4. Будашкин Ю., Потапенко И., Летухова В., 2004. Организация мониторинга состояния

CONCLUSION

The introduction of some alien species into the territory of the Republic of Crimea, their rapid reproduction and spread on the peninsula require annual detailed surveys of the territories in order to study the current state of the populations, as well as to develop and implement protective measures for new and existing pest outbreaks.

Acknowledgement. The authors are grateful to D.G. Kasatkin, Leading Researcher of the Rostov Branch of FGBU “VNIICR”, for confirmation of the Bruchidae species identification.

REFERENCES

1. Balueva E. Population structure and ecological features of different morphs of *Harmonia axyridis* Pall. (Coleoptera, Coccinellidae). Abstract diss. for the competition uch. step. cand. biol. nauk, St. Petersburg, 2010; 19 p.
2. Bidychak R., Dronov A., Khaverinen R. New detections of Noctuidae s. l. in the Crimea [Novyye nakhodki sovok (Noctuidae s. l.) v Krymu]. *Eversmannia. Entomological research in Russia and neighboring regions*, 2011; Vol. 25–26: 81–86 (in Russian).
3. Budashkin Yu. Results of a twenty-year stationary study of the Lepidoptera fauna of the Karadag Nature Reserve [Itogi dvadtsatiletnego statsionarnogo izucheniya fauny cheshuyekrylykh (Lepidoptera) Karadagskogo prirodnogo zapovednika]. In the book: Karadag. History, geology, botany, zoology. Collection of scientific papers dedicated to the 90th anniversary of the Karadag scientific station named after T.I. Vyazemsky and the 25th anniversary of the Karadag nature reserve of the National Academy of Sciences of Ukraine. 2004; Book 1: 323–366 (in Russian).
4. Budashkin Yu., Potapenko I., Letukhova V. Organization of monitoring of the state of populations of the plane moth *Phyllonorycter platani* (Staudinger, 1870) (Lepidoptera: Gracillaridae) in the South-Eastern Crimea [Organizatsiya monitoringa sostoyaniya populyatsiy platanovoy moli *Phyllonorycter platani* (Staudinger, 1870) (Lepidoptera: Gracillaridae) v Yugo-Vostochnom Krymu]. *Ecosystems of the Crimea, their optimization and protection: Thematic collection of scientific papers*, 2004; 14:19–28 (in Russian).
5. Gapon D. The first finds of the North American bug *Leptoglossus occidentalis* Heid. (Heteroptera, Coreidae) on the territory of Russia and Ukraine, the patterns of its distribution and the possibility of expanding its range in the Palearctic [Pervyye nakhodki severoamerikanskogo klopa *Leptoglossus occidentalis* Heid. (Heteroptera, Coreidae) na territorii Rossii i Ukrainy, zakonmernosti yego rasprostraneniya i vozmozhnosti rasshireniya areala v Palearktike]. *Entomological Review*, 2012; 91 (3): 559–569 (in Russian).
6. Gninenko Yu., Shiryaeva N., Shchurov V. The Box Tree Moth – a New Invasive Pest in the Caucasian Forests. *Plant Health. Research and Practice*, 2014; 3: 32–36.
7. The State Service for Plant Quarantine in the Autonomous Republic of Crimea is 70 years old. Anniversary brochure, 2004.

популяций платановой моли *Phyllonorycter platanii* (Staudinger, 1870) (Lepidoptera: Gracillaridae) в Юго-Восточном Крыму. – Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана: Тематический сборник научных трудов, вып. 14: 19–28.

5. Гапон Д., 2012. Первые находки североамериканского клопа *Leptoglossus occidentalis* Heid. (Heteroptera, Coreidae) на территории России и Украины, закономерности его распространения и возможности расширения ареала в Палеарктике. – Энтомологическое обозрение, 91 (3): 559–569.

6. Гниненко Ю., Ширяева Н., Щуров В., 2014. Самшитовая огневка – новый инвазивный организм в лесах Кавказа. – Карантин растений. Наука и практика, № 3: 32–36.

7. Государственной службе по карантину растений по АР Крым 70 лет. Юбилейная брошюра, 2004 г.

8. Гура Н., Стрюкова Н., Шипулин А., 2019. Диагностика *Pseudococcus viburni* (Signoret) и его отличие от карантинного вида *Pseudococcus comstocki* (Kuwana). – Фитосанитария. Карантин растений, № 1: 27–35.

9. Иванова Г., Великань В., 1991. Западный цветочный трипс. – Защита растений, № 6: 61–62.

10. Ижевский С., 1994. Прогноз появления новых вредителей – основа для планирования интродукции. – Защита растений, № 7: 8–9.

11. Мартынов В., Никулина Т., 2015. *Bruchidius siliquastri* Delobel, 2007 (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) – новый инвазивный вид зерновок в фауне Крыма. – Евразийский энтомологический журнал, 14 (6): 552–553.

12. Мартынов В., Никулина Т., 2016. Новые инвазивные виды жуков-зерновок (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) в фауне Крыма. – В кн.: Заповедники Крыма – 2016: биологическое и ландшафтное разнообразие, охрана и управление. Тезисы VIII Международной научно-практической конференции (Симферополь, 28–30 апреля 2016 г.). Симферополь, 364 с.: 323–325. URL: https://www.researchgate.net/publication/302914692_New_invasive_species_of_seed-beetles_Coleoptera_Chrysomelidae_Bruchinae_in_the_Crimean_fauna#fullTextFileContent (дата обращения: 03.12.2021).

13. Масляков В., Ижевский С. Инвазии растительноядных насекомых в европейскую часть России. – М.: ИГРАН, 2011, 289 с.

14. Савчук В., Кайгородова Н., 2017. Новые сведения по фауне и биологии чешуекрылых (Lepidoptera) Крыма. – Кавказский энтомологический бюллетень, 13 (1): 111–124.

15. Стрюкова Н., 2009. Платановый клоп – новый вредитель платана в Крыму. – Сборник научных трудов ученых ЮФ НУБиП Украины «КАТУ», вып. 125. Симферополь, 243 с.: 223–227.

16. Стрюкова Н., 2014. Инвазивные насекомые в республике Крым. – Сборник науч. трудов по материалам международной заочной научно-практической конференции «Актуальные направления научных исследований XXI века: теория и практика». ФГБОУ ВПО «ВГЛТА», № 6 (11): 119–124.

17. Стрюкова Н., 2016. Аборигенные и инвазивные членистоногие и их естественные враги в парках Республики Крым. – Сборник научных трудов ГНБС: «Защита плодовых, декоративных культур и винограда от патогенных организмов

8. Gura N., Stryukova N., Shipulin A. Diagnostics of *Pseudococcus viburni* (Signoret) and its difference from quarantine species *Pseudococcus comstocki* (Kuwana). *Plant Health and Quarantine*, 2019; 1: 27–35.

9. Ivanova G., Velikan V. *Frankliniella occidentalis* Pergande. *Plant Protection*, 1991; 6: 61–62 (in Russian).

10. Izhevsky S. Prediction of the emergence of new pests is the basis for planning introduction [Prognoz povyavleniya novykh vreditel'ey – osnova dlya planirovaniya introduktsii]. *Plant Protection*, 1994; 7: 8–9 (in Russian).

11. Martynov V., Nikulina T. *Bruchidius siliquastri* Delobel, 2007 (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) is a new invasive weevil species in the Crimean fauna [*Bruchidius siliquastri* Delobel, 2007 (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) – novyy invazivnyy vid zernovok v faune Kryma]. *Eurasian Entomological Journal*, 2015; 14 (6): 552–553 (in Russian).

12. Martynov V., Nikulina T., 2016. New invasive species of grain beetles (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in the Crimean fauna. In the book: Reserves of Crimea – 2016: biological and landscape diversity, protection and management. Abstracts of the VIII International Scientific and Practical Conference (Simferopol, April 28–30, 2016). Simferopol, 364 p.: 323–325. URL: https://www.researchgate.net/publication/302914692_New_invasive_species_of_seed-beetles_Coleoptera_Chrysomelidae_Bruchinae_in_the_Crimean_fauna#fullTextFileContent (last accessed: 03.12.2021) (in Russian).

13. Maslyakov V., Izhevsky S. Invasions of herbivorous insects in the European part of Russia [Invazii rastitel'noyadnykh nasekomykh v yevropeyskuyu chast' Rossii]. М.: ИГРАН, 2011, 289 p. (in Russian).

14. Savchuk V., Kaigorodova N. New data on the fauna and biology of Lepidoptera (Lepidoptera) of Crimea [Novyye svedeniya po faune i biologii cheshuyekrylykh (Lepidoptera) Kryma]. *Caucasian Entomological Bulletin*, 2017; 13 (1): 111–124 (in Russian).

15. Stryukova N. *Corythucha ciliata* Say is a new pest of plane tree in the Crimea [Platanovyy kloп – novyy vreditel' platana v Krymu]. Collection of scientific works of scientists of the Law Firm NUBiP of Ukraine “КАТУ”, Vol. 125. Simferopol, 2009; 243 p.: 223–227 (in Russian).

16. Stryukova N. Invasive insects in the Republic of Crimea [Invazivnyye nasekomye v respublike Krym]. Collection of scientific works based on the materials of the international correspondence scientific-practical conference “Actual directions of scientific research of the XXI century: theory and practice”. FGBOU VPO “VGLTA”, 2014; 6 (11): 119–124 (in Russian).

17. Stryukova N. Native and invasive arthropods and their natural enemies in the parks of the Republic of Crimea [Aorigennyye i invazivnyye chlenistonogiye i ikh yestestvennyye vragi v parkakh Respubliki Krym]. Collection of scientific works of GNBS: “Protection of fruit, ornamental crops and grapes from pathogenic organisms and ways to increase the sustainability of perennial plantations”, ed. Doctor of Biological Sciences V.P. Isikov. Yalta, 2016; 142: 186–193 (in Russian).

18. Stryukova N., Omelyanenko T., Golub V. *Corythucha Arcuata* in the Republic of Crimea. *Plant Protection and Quarantine*, 2019; 9: 43–45.

и способы повышения устойчивости многолетних насаждений» / под общей ред. доктора биологических наук В.П. Исикова. Ялта, Т. 142: 186–193.

18. Стрюкова Н., Омеляненко Т., Голуб В., 2019. Дубовая кружевница в Республике Крым. – Защита и карантин растений, № 9: 43–45.

19. Стрюкова Н., Стрюков А., 2012. Новая находка на альбиции. – Тезисы доклада Всеукраинской XLI научной конференции ППС, аспирантов и студентов ТНУ, секция «Зоология», 21 апреля 2012 г., Симферополь, с. 19–20.

20. Стрюкова Н., Стрюков А., 2015. О распространении самшитовой огневки в парках города Симферополя. – Сборник тезисов участников I научной конференции ППС, аспирантов, студентов и молодых ученых «Дни науки КФУ им. В.И. Вернадского». Симферополь: Антикава, с. 29–30.

21. Стрюкова Н., Стрюков А., 2019. Первое обнаружение коричнево-мраморного клопа в Крыму. – Устойчивое ноосферное развитие: сборник тезисов докладов научной конференции, посвященной 156-летию со дня рождения В.И. Вернадского / под ред. А.И. Башты. Симферополь: ИП Зуева Т.В., с. 68–69.

22. Стрюкова Н., Стрюков А., 2020а. Новый вид для энтомофауны Крыма – цикадка белая, или цитрусовая *Metcalfa pruinosa* (Say, 1830) (Auchenorrhyncha: Flatidae). – Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию отдела энтомологии, фитопатологии и защиты растений Никитского ботанического сада, «Актуальные проблемы и перспективы интегрированной защиты плодовых, декоративных и лесных культур». ФГБУН «НБС-ННЦ», г. Ялта, Республика Крым, Россия. 12–16 октября 2020 г. Симферополь: ИТ «Ариал», с. 70–73.

23. Стрюкова Н., Стрюков А., 2020b. Новые данные об инвазивных насекомых в Республике Крым. – Plant biology and horticulture: theory, innovation, 157 (4): 56–67. URL: <https://doi.org/10.36305/2712-7788-2020-4-157-56-66>.

24. Стрюкова Н., Стрюков А. 2021. Чужеродные фитофаги в парках Крыма. – Материалы 10-й международной научно-практической конференции «Защита растений от вредных организмов», 21–25 июня 2021 г., Краснодар, с. 351–354.

25. Трикоз Н., 2017. Австралийский желобчатый червец (*Icerya purchasi* Mask.) – опасный вредитель в парках Южного Берега Крыма. – Бюллетень ГНБС, 122: 70–76.

26. Щуров В., Скворцов М., Радченко К., Семенов А., Жуков Е., Щурова А., 2017. Инвентаризация мест обитания и популяций самшита колхидского как потенциальных участков ЛВПЦ на южном макросклоне Северо-Западного Кавказа в условиях продолжающейся инвазии самшитовой огневки. – Устойчивое лесопользование, 52 (4): 13–21.

7. Martynov V., Gubin A., Nikulina T., 2018. *Bruchidius terrenus* (Sharp, 1886) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae): a new invasive species of seed beetles in the fauna of Russia. – Russian Journal of Biological Invasions, 9 (3): 237–240.

10. Единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза, утвержденный Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 30 ноября 2016 г. № 158 (с изменениями от 18 мая 2021 г. согласно Решению Совета

19. Stryukova N., Stryukov A. New detection on Albizia [Novaya nakhodka na albitsii]. Abstracts of the report of the All-Ukrainian XLI scientific conference of teaching staff, postgraduates and students of TNU, section “Zoology”, April 21, 2012, Simferopol, 2012; 19–20 (in Russian).

20. Stryukova N., Stryukov A. On the distribution of boxwood moth in the parks of the city of Simferopol. Collection of abstracts of the participants of the I scientific conference of teaching staff, graduate students, students and young scientists “Days of Science of KFU named after. IN AND. Vernadsky”. Simferopol: Antiqua, 2015; 29–30 (in Russian).

21. Stryukova N., Stryukov A. The first discovery of *Halyomorpha halys* Stål in the Crimea. Sustainable noospheric development: a collection of abstracts of the scientific conference dedicated to the 156th anniversary of the birth of V.I. Vernadsky, ed. A.I. Bashty. Simferopol: IP Zueva T.V., 2019; 68–69 (in Russian).

22. Stryukova N., Stryukov A., 2020a. A new species for the Crimean entomofauna – *Metcalfa pruinosa* (Say, 1830) (Auchenorrhyncha: Flatidae). Materials of the international scientific and practical conference dedicated to the 100th anniversary of the Department of Entomology, Phytopathology and Plant Protection of the Nikitsky Botanical Garden, “Actual problems and prospects for the integrated protection of fruit, ornamental and forest crops”. FGBUN “NBS-NSC”, Yalta, Republic of Crimea, Russia. October 12–16, 2020, Simferopol: Arial IT, p. 70–73 (in Russian).

23. Stryukova N., Stryukov A., 2020b. New data on invasive insects in the Republic of Crimea. *Plant biology and horticulture: theory, innovation*, 157 (4): 56–67. URL: <https://doi.org/10.36305/2712-7788-2020-4-157-56-66>.

24. Stryukova N., Stryukov A. Alien phytophages in the parks of Crimea. Materials of the 10th International Scientific and Practical Conference “Protection of Plants from Pests”, June 21–25, 2021, Krasnodar, 2021; 351–354 (in Russian).

25. Trikoz N.N. Cottony cushion scale (*Icerya purchasi* Mask.) is a dangerous pest in the parks of the Southern Coast of the Crimea. *Bulletin of the State Nikitsky Botanical Gardens*. 2017; 122: 70–76 (In Russian).

26. Shchurov V., Skvortsov M., Radchenko K., Semenov A., Zhukov E., Shchurova A. Inventory of habitats and populations of *Buxus colchica* as potential HCVF sites on the southern macroslope of the Northwestern Caucasus under conditions of ongoing invasion *Cydalis perspectalis* [Inventarizatsiya mest obitaniya i populyatsiy *Buxus colchica* kak potentsialnykh uchastkov LVPTS na yuzhnom makrosklone Severo-Zapadnogo Kavkaza v usloviyakh prodolzhayushcheysoy invazii samshitovoy ognevki]. *Sustainable Forest Management*, 2017; 52 (4): 13–21 (in Russian).

27. Martynov V., Gubin A., Nikulina T. *Bruchidius terrenus* (Sharp, 1886) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae): a new invasive species of seed beetles in the fauna of Russia. *Russian Journal of Biological Invasions*, 2018, 9 (3): 237–240.

28. The Common List of Quarantine Objects of the Eurasian Economic Union, approved by the Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission

Евразийской экономической комиссии от 18 мая 2021 г. № 54). Официальный сайт федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский центр карантина растений» [Электронный ресурс]. – URL: <https://vniikr.ru/dokumenty/epko-eaes> (дата обращения: 03.10.2022).

14. EPPO Global Database, 2021 [Электронный ресурс]. – URL: <https://gd.eppo.int> (дата обращения: 17.11.2021).

16. ResearchGate [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.researchgate.net/publication/> (дата обращения: 03.10.2022).

17. Перечень инвазивных видов – приоритетных мишеней России [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.sevin.ru/top100worst/priortargets/Insects.html> (дата обращения: 03.10.2022).

18. GBIF – Global Biodiversity Information Facility [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.gbif.org/> (дата обращения: 17.11.2021).

19. Ukrainian Biodiversity Information Network. Національна мережа інформації з біорізноманіття [Электронный ресурс]. – URL: <https://ukrbn.com> (дата обращения: 17.11.2021).

21. МАКРОИДентификация – проект МакроКлуба (beta) [Электронный ресурс]. – URL: <http://macroid.ru> (дата обращения: 03.10.2022).

23. Официальный сайт Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзора) [Электронный ресурс]. – URL: <https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/files/poleznaya-informaciya/phytoquarantine2022-05-26.pdf> (дата обращения: 03.10.2022).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Стрюкова Наталья Михайловна, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник – начальник научно-методического отдела Южного филиала ФГБУ «ВНИИКР», г. Симферополь, Республика Крым, Россия;
ORCID 0000-0003-2285-0228;
e-mail: stryukovanata@mail.ru.

Стрюков Александр Алексеевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры экологии и зоологии ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», г. Симферополь, Республика Крым, Россия;
e-mail: zoostr@mail.ru.

dated November 30, 2016 No. 158 (as amended on May 18, 2021 in accordance with the Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission dated May 18, 2021 No. 54). Official website of the federal state budgetary institution “All-Russian Center for Plant Quarantine” [Electronic resource]. URL: <https://vniikr.ru/dokumenty/epko-eaes> (last accessed: 03.10.2022).

29. EPPO Global Database, 2021 [Electronic resource]. URL: <https://gd.eppo.int> (last accessed: 17.11.2021).

30. ResearchGate [Electronic resource]. URL: <https://www.researchgate.net/publication/> (last accessed: 03.10.2022).

31. List of invasive species – priority targets for Russia [Electronic resource]. URL: <http://www.sevin.ru/top100worst/priortargets/Insects.html> (last accessed: 03.10.2022).

32. GBIF – Global Biodiversity Information Facility [Electronic resource]. URL: <https://www.gbif.org/> (last accessed: 17.11.2021).

33. Ukrainian Biodiversity Information Network. [Electronic resource]. URL: <https://ukrbn.com> (last accessed: 17.11.2021).

34. MACRO IDENTIFICATION – MacroClub project (beta) [Electronic resource]. URL: <http://macroid.ru> (last accessed: 03.10.2022).

35. Official website of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhozнадзор) [Electronic resource]. URL: <https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/files/poleznaya-informaciya/phytoquarantine2022-05-26.pdf> (last accessed: 03.10.2022).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Natalya Stryukova, PhD in Agriculture, Senior Researcher, Head of Research and Methodology Department, Southern Branch of FGBU “VNIKCR”, Simferopol, Republic of Crimea, Russia;
ORCID 0000-0003-2285-0228;
e-mail: stryukovanata@mail.ru.

Aleksandr Stryukov, PhD in Biology, Associate Professor of the Department of Ecology and Zoology, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Republic of Crimea, Russia; e-mail: zoostr@mail.ru.

Оценка применимости классических и молекулярных методов диагностики возбудителя *Bipolaris zeicola* (Stout) Shoemaker в лабораторных условиях

А.В. КАМЧЕНКОВ¹, Ю.В. ЦВЕТКОВА²,
А.А. КУЗНЕЦОВА³, И.П. ДУДЧЕНКО⁴, Г.Р. УСМАНОВА⁵

^{1, 2, 3, 4} ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия

⁵ ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К. А. Тимирязева», г. Москва, Россия

¹ e-mail: akamchenkov@mail.ru

² ORCID 0000-0002-4334-9224, e-mail: yutska@mail.ru

³ ORCID 0000-0001-8443-2641, e-mail: kyyznec@bk.ru

⁴ ORCID 0000-0003-0169-414X,
e-mail: irinafito129@mail.ru

⁵ e-mail: gulnaz.usmanova005@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Возбудитель пятнистости листьев кукурузы *Cochliobolus carbonum* R.R. Nelson (= *Bipolaris zeicola* (Stout) Shoemaker) – карантинный вредный организм для Российской Федерации и ряда других стран, способный инфицировать не только злаковые культуры, но и другие сельскохозяйственные растения. Вид распространен во многих регионах возделывания кукурузы на всех континентах, обладает высокой вредоносностью при определенных условиях окружающей среды, вызывая массовые эпифитотии и тяжелые поражения культурных растений. Ввозимая подкарантинная семенная продукция растений кукурузы (*Zea mays* L.) несет высокий фитосанитарный риск проникновения инвазивных видов на территорию РФ и их распространения на ней. Поэтому своевременная диагностика, основанная на правильном подходе применения методов выявления и идентификации карантинных вредных организмов, является важным критерием микологических исследований. В статье представлены данные о видах рода *Cochliobolus*, выявленных из подкарантинного материала растений кукурузы в ходе лабораторных исследований за период 2017–2021 гг. Проведена апробация метода классической полимеразной цепной реакции (ПЦР) с применением видоспецифичных праймеров (Bz-F/Bz-R), разработанных Kang et al. В ходе исследований определены рабочие критерии, по которым установлено, что изучаемая тест-система характеризуется высокой аналитической чувствительностью и специфичностью и применима для проведения лабораторного исследования карантинного вида *B. zeicola* в поступающей

Evaluation of the applicability of classical and molecular methods for diagnosing the phytopathogen *Bipolaris zeicola* (Stout) Shoemaker in laboratory conditions

A.V. KAMCHENKOV¹, YU.V. TSVETKOVA²,
A.A. KUZNETSOVA³, I.P. DUDCHENKO⁴,
G.R. USMANOVA⁵

^{1, 2, 3, 4} FGBU “All-Russian Plant Quarantine Center” (FGBU “VNIKCR”), Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

⁵ Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

¹ e-mail: akamchenkov@mail.ru

² ORCID 0000-0002-4334-9224, e-mail: yutska@mail.ru

³ ORCID 0000-0001-8443-2641, e-mail: kyyznec@bk.ru

⁴ ORCID 0000-0003-0169-414X,
e-mail: irinafito129@mail.ru

⁵ e-mail: gulnaz.usmanova005@mail.ru

ABSTRACT

Leaf blight of maize *Cochliobolus carbonum* R.R. Nelson (= *Bipolaris zeicola* (Stout) Shoemaker) is a quarantine pest for the Russian Federation and some other countries, capable of infecting not only cereals, but also other agricultural plants. The species is spread in many regions of corn cultivation on all continents, has a high harmfulness under certain environmental conditions, causing massive epiphytotic and severe damage to cultivated plants. Imported regulated seed products of corn plants (*Zea mays* L.) poses a high phytosanitary risk of introduction of invasive species into the Russian Federation and their spread within it. Therefore, timely diagnosis, based on the correct approach to the application of methods for the detection and identification of quarantine pests, is an important criterion for mycological research. The article presents data on the species of the genus *Cochliobolus* detected from regulated corn plants in the course of laboratory studies for the period 2017–2021. The classical polymerase chain reaction (PCR) method was tested using species-specific primers (Bz-F/Bz-R) developed by Kang et al. In the course of the research, working criteria were determined, according to which it was found that the test system under study is characterized by high analytical sensitivity and specificity and is applicable for laboratory testing of the quarantine species *B. zeicola* in incoming regulated corn plants. The article also describes the classical cultural and morphological methods for identifying the

подкарантинной продукции растений кукурузы. Также в статье описаны классические культурально-морфологические методы идентификации вида *B. zeicola*, проведен генетический анализ изолятов по участку внутреннего транскрибируемого спейсера ITS4-5, 8S-ITS5. Приведен сравнительный морфологический анализ целевого и близкородственных видов, встречающихся на растениях кукурузы.

Ключевые слова. Пятнистость листьев кукурузы, фитопатоген, выявление и идентификация, ПЦР, аналитическая чувствительность, аналитическая специфичность.

ВВЕДЕНИЕ

Возбудитель пятнистости листьев кукурузы *Cochliobolus carbonum* R.R. Nelson (*Bipolaris zeicola* (Stout) Shoemaker – анаморфа) является карантинным вредным организмом, отсутствующим на территории Российской Федерации. Данный вид широко распространен по всему миру, есть сообщения о его обнаружении в Австралии, Бразилии, Канаде, Китае, Конго, Австрии, Египте, Индии, Кении, Новой Зеландии, Нигерии, на Соломоновых Островах и в США (gd.eppo.int). По мнению многих ученых, патоген является одним из самых агрессивных представителей рода *Cochliobolus* (Manamgoda et al., 2014). Согласно современной систематике, грибы, ранее принадлежавшие к одному роду *Cochliobolus* с анаморфной стадией *Helminthosporium*, реклассифицированы в разные группы. Так, анаморфная стадия карантинного объекта, о котором идет речь в данной статье, называется *Bipolaris zeicola*, и данное название является предпочтительным. В таблице 1 указаны текущие названия возбудителей и часто встречающиеся синонимы, которые также включают прежние названия (speciesfungorum.org).

Хотя основным растением-хозяином является кукуруза (*Zea mays*), патоген поражает и других представителей семейства Злаковые (Poaceae), таких как сорго (*Sorghum* spp.), рис посевной (*Oryza sativa* L.), ячмень обыкновенный (*Hordeum vulgare* L.), пшеница (*Triticum* spp.), рожь посевная (*Secale cereale* L.) гречка (*Paspalum* spp.), щетинник (*Setaria* spp.), полевичка (*Eragrostis* spp.), а также незлаковые культуры – яблоню домашнюю (*Malus domestica* Borkh. (Rosaceae)) и кофе арабийский (*Coffea arabica* L. (Rubiaceae)) (Cipollone et al., 2020). В 2018 г. в Египте были обнаружены посевы риса, пораженные *B. zeicola*, вызвавшим гниение и гибель сеянцев риса. Выделенные из зараженной рассады изоляты, при различных уровнях патогенности, обладали высокой вирулентностью, поражая до 56% проростков риса. Установлено, что зараженные семена являются основным способом распространения инфекции, вызванной возбудителем *B. zeicola* (Rabie et al., 2018). Поэтому, вероятно, полный круг растений – хозяев этого патогена до конца еще не определен.

B. zeicola species, carried out a genetic analysis of the isolates in the region of the internal transcribed spacer ITS4-5, 8S-ITS5. A comparative morphological analysis of the target and closely related species occurring on corn plants is given.

Key words. Leaf blight of maize, phytopathogen, detection and identification, PCR, analytical sensitivity, analytical specificity.

INTRODUCTION

C*ochliobolus carbonum* R.R. Nelson (*Bipolaris zeicola* (Stout) Shoemaker – anamorph) is a quarantine pest, absent in the Russian Federation. This species is widely spread throughout the world, there are reports of its detection in Australia, Brazil, Canada, China, Congo, Austria, Egypt, India, Kenya, New Zealand, Nigeria, Solomon Islands and USA (gd.eppo.int). According to many scientists, the pathogen is one of the most aggressive representatives of the genus *Cochliobolus* (Manamgoda et al., 2014). According to modern taxonomy, fungi that previously belonged to the same genus *Cochliobolus* with anamorphic stage *Helminthosporium*, were reclassified into different groups. So, the anamorphic stage of the quarantine pest under discussion, is called *Bipolaris zeicola*, and this name is preferred. Table 1 lists the current names of pathogens and frequently occurring synonyms, which also include former names (speciesfungorum.org).

Although the main host plant is maize (*Zea mays*), the pathogen also infects other members of the family Poaceae, such as *Sorghum* spp., *Oryza sativa* L., *Hordeum vulgare* L., *Triticum* spp., *Secale cereale* L., *Paspalum* spp., *Setaria* spp., *Eragrostis* spp., as well as non-cereals – *Malus domestica* Borkh. (Rosaceae) and *Coffea arabica* L. (Rubiaceae) (Cipollone et al., 2020). In 2018, in Egypt, there were detected rice crops affected by *B. zeicola*, causing rot and death of rice seedlings. Isolates from infected seedlings, at various levels of pathogenicity, had high virulence, affecting up to 56% of rice seedlings. It has been established that infected seeds are the main pathway for the infection caused by the pathogen *B. zeicola* (Rabie et al., 2018). Therefore, it is likely that the full range of plant hosts of this pathogen has not yet been fully determined.

The disease was first detected and described by the American scientist A.J. Ullstrup on corn crops in Indiana, USA in 1938 (Ullstrup, 1944). In 1943–1947, due to favorable weather conditions, the disease spread widely to the eastern states of the United States, and later appeared in the northern part of the corn belt of the

Таблица 1
Названия грибов рода *Cochliobolus*
Table 1
Genus *Cochliobolus* fungi names

№ п/п	Текущее общепринятое название Current common name	Синонимы Synonyms
1	<i>Bipolaris zeicola</i> (G.L. Stout) Shoemaker, 1959	<i>Helminthosporium zeicola</i> G.L. Stout, 1930, <i>Cochliobolus carbonum</i> R.R. Nelson, 1959
2	<i>Cochliobolus heterostrophus</i> (Drechsler) Drechsler, 1934	<i>Helminthosporium maydis</i> Y. Nisik. & C. Miyake, 1926, <i>Bipolaris maydis</i> (Y. Nisik. & C. Miyake) Shoemaker, 1959
3	<i>Bipolaris sorokiniana</i> Shoemaker, 1959	<i>Helminthosporium sorokinianum</i> Sacc., 1891, <i>Helminthosporium sativum</i> Pammel, C.M. King & Bakke, 1910, <i>Cochliobolus sativus</i> (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur, 1942
4	<i>Exserohilum turcicum</i> (Pass.) K.J. Leonard & Suggs, 1974	<i>Helminthosporium turcicum</i> Pass., 1876, <i>Bipolaris turcica</i> (Pass.) Shoemaker, 1959
5	<i>Bipolaris zea</i> Sivan., 1985	<i>Cochliobolus zea</i> H.S. Chang, 1992
6	<i>Cochliobolus bicolor</i> A.R. Paul & Parbery, 1966	<i>Bipolaris bicolor</i> (Mitra) Shoemaker 1959, <i>Helminthosporium bicolor</i> Mitra, 1930

Впервые заболевание было обнаружено и описано американским ученым А.Дж. Уллstrup на посевах кукурузы в штате Индиана в США в 1938 г. (Ullstrup, 1944). В 1943–1947 гг. из-за благоприятных погодных условий болезнь широко распространилась в восточные штаты США, а позже проявилась и в северной части кукурузного пояса страны. Впоследствии с зараженными семенами возбудитель распространился в регионы возделывания кукурузы и отмечался на всех континентах.

В России и на территории бывшего СССР патоген неоднократно обнаруживался на растениях кукурузы, выращенных из импортных семян. По сообщениям М.Ф. Боровской и В.Г. Матичука, в Молдавии это заболевание было отмечено в 1976 г., а на территории Западной Украины этот грибок был выявлен раньше (Боровская, Матичук, 1990). К 1990 г., по информации ВНИТИКиЗР, в СССР было зарегистрировано 44 очага гельминтоспориозной пятнистости листьев кукурузы. В основном ареал заболевания охватывал центральную часть Северного Кавказа, Западную Грузию, Западную Украину и Молдавию. Непосредственно в России в 1978 и 2002 гг. возбудителя пятнистости листьев кукурузы выявляли на отдельных участках Северного Кавказа и Приморского края (Александров, 1992; Мартынюк, 2003).

Однако в 2018 г., по данным Справочника по карантинному фитосанитарному состоянию территорий государств – участников СНГ на 01.01.2018, ни одного очага заболевания, вызванного возбудителем *B. zeicola*, на территории России зафиксировано не было (vniikr.ru). Дело в том, что *B. zeicola*, в отличие от таких возбудителей, как *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., относится к группе факультативных паразитов с недостаточно развитой приспособленностью к изменяющимся факторам внешней среды и условиям питания. Недостаточная пластичность и своеобразные экологические требования возбудителей группы *Cochliobolus* не позволяют им

country. Subsequently, with infected seeds, the pathogen spread to the regions of corn cultivation and was noted on all continents.

In Russia and on the territory of the former USSR, the pathogen has repeatedly been detected on corn plants grown from imported seeds. According to M.F. Borovskoy and V.G. Matichuk, in Moldova this disease was reported in 1976, and on the territory of Western Ukraine this fungus was reported earlier (Borovskaya, Matichuk, 1990). By 1990, according to VNIITIKiZR, 44 outbreaks of Northern Corn Leaf Blight (NCLB) in corn were reported in the USSR. Basically, the area of the disease covered the central part of the North Caucasus, Western Georgia, Western Ukraine and Moldova. Directly in Russia in 1978 and 2002, causative agent of leaf blight of maize was detected in certain areas of the North Caucasus and Primorsky Krai (Aleksandrov, 1992; Martynyuk, 2003).

However, in 2018, according to the Directory of Quarantine Phytosanitary Status of the Territories of the CIS Member States as of 01/01/2018, not a single outbreak of the disease caused by the pathogen *B. zeicola* was reported in Russia (vniikr.ru). In fact, *B. zeicola*, unlike pathogens such as *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., belongs to the group of facultative parasites with insufficiently developed adaptability to changing environmental factors and nutritional conditions. Insufficient plasticity and peculiar ecological requirements of pathogens of the *Cochliobolus* group do not allow them to survive in areas that differ from their natural habitats, accumulate the necessary amount of infectious agent for an outbreak and spread of the disease to new territories.

Thus, at the Wheat for the National Warm Areas conference held in Brazil in 1990, *Bipolaris sorokiniana* Shoemaker, belonging to the same genus as *B. zeicola*, was recognized as the most economically important leaf pathogen of wheat, but only for regions with a warm climate, for example, for Bangladesh, Brazil, India, Nepal, etc. (Manamgoda et al., 2011). As a rule, pathogens of this group, if they do not find suitable conditions, are localized in the places of importation or detection of the primary outbreak. Also, if they are detected long ago enough, then, limited to certain climatic zones and range of host plants, these pathogens do not spread to new areas. Being facultative parasites, they can remain in the plant for some time without causing disease, subsequently manifesting themselves as hemibiotrophs. The beginning of the manifestation of the parasitic properties of these pathogens can also serve as a weakening of the plant's immunity caused by damage to other pathogens, such as *Bipolaris maydis* or *Bipolaris turcica*. Therefore, *B. zeicola* often occurs in combination with the above species on affected plants.

выживать в районах, отличающихся от условий их естественного обитания, накапливать необходимое количество инфекционного начала для вспышки и распространения заболевания на новые территории.

Так, на конференции Wheat for the National Warm Areas, состоявшейся в Бразилии в 1990 г., *Bipolaris sorokiniana* Shoemaker, относящийся к тому же роду, что и *B. zeicola*, был признан наиболее экономически значимым листовым патогеном пшеницы, но только для регионов с теплым климатом, например для Бангладеш, Бразилии, Индии, Непала и др. (Manamgoda et al., 2011). Как правило, возбудители этой группы, если не находят подходящих условий, локализируются в местах завоза или обнаружения первичного очага. Также в случае если они обнаружены достаточно давно, то, ограниченные определенными климатическими зонами и кругом растений-хозяев, эти патогены не распространяются в новые районы. Будучи факультативными паразитами, они какое-то время могут находиться в растении, не вызывая болезни, впоследствии проявляя себя как гемибiotрофы. Началом проявления паразитических свойств данных патогенов может послужить также ослабление иммунитета растения, вызванное поражением другими возбудителями, например *Bipolaris maydis* или *Bipolaris turcica*. Поэтому часто на пораженных растениях вид *B. zeicola* встречается в комплексе с вышеуказанными видами. На это в своих работах указывали и американские ученые A.J. Ullstrup (1944) и A.L. Hooker (1974). Причем Hooker в 1973 г., несмотря на то что южная пятнистость листьев кукурузы была уже описана в 1938 г., назвал это заболевание новым, широко распространившимся в северной части кукурузного пояса США (Hooker, 1974). То есть все время до 1973 г. вид *B. zeicola* никак себя не проявлял в силу того, что комплекс необходимых условий для его развития был недостаточно полным.

Вредоносность возбудителей заключается в том, что при недостаточном комплексе условий они либо не проявляют своего присутствия, либо ведут себя как слабые патогены. Но при иных условиях, зачастую непредсказуемых, они проявляют свои разрушительные фитопатогенные свойства, вызывая эпифитотии и тяжелые поражения растений. Поэтому фитопатологи всего мира проявляют особый интерес к возбудителям этой группы, включая род *Cochliobolus*, представители которого введены в карантинные списки многих стран.

Симптомы проявления поражения видом *B. zeicola* отмечаются на всех надземных частях растения: листьях, стеблях, обертках початков и на самих початках с зерновками. Помимо этого, патоген постепенно проникает в ткани растения, тем самым вызывая корневую гниль и гниль початков, а также начальных всходов. На ранней стадии поражения растение имеет мелкие, бледно-зеленые или желтоватые пятна, которые в дальнейшем становятся коричневыми и приобретают овальную или округлую форму, иногда бывают неправильной формы, с более светлыми или пурпурными краями. На початках кукурузы поражаются зерновки, становясь со временем темными, покрываясь сажистым налетом и приобретая сморщенную, шероховатую поверхность.

This was also pointed out in their works by American scientists A.J. Ullstrup (1944) and A.L. Hooker (1974). Moreover, Hooker in 1973, despite the fact that southern leaf blight of maize had already been described in 1938, called this disease a new one, widely spread in the northern part of the US corn belt (Hooker, 1974). That is, all the time until 1973, the species *B. zeicola* did not manifest itself in any way due to the fact that the set of necessary conditions for its development was not complete enough.

The harmfulness of pathogens lies in the fact that under an insufficient set of conditions they either do not show their presence or behave like weak pathogens. But under other conditions, often unpredictable, they manifest their destructive phytopathogenic properties, causing epiphytotic and severe plant damage. Therefore, phytopathologists around the world are showing particular interest in pathogens of this group, including the genus *Cochliobolus*, whose representatives are included in the quarantine lists of many countries.

Symptoms of *B. zeicola* infection are noted on all above-ground parts of the plant: leaves, stems, cob wraps and on the cobs themselves with caryopses. In addition, the pathogen gradually penetrates the plant tissue, thereby causing root and cob rot, as well as initial shoots. In the early stage of infection, the plant has small, pale green or yellowish spots, which later turn brown and acquire an oval or round shape, sometimes they are irregular in shape, with lighter or purple edges. On the cob of corn, grains are affected, becoming dark over time, covered with a sooty coating and acquiring a wrinkled, rough surface.

The same symptoms of damage were noted in most species of the genus *Cochliobolus*, they are quite similar to each other, so the initial identification of *B. zeicola* species in the field and laboratory conditions can be quite difficult. Distinguishing closely related species based on symptoms alone is problematic (Manamgoda et al., 2014).

The identification of *Cochliobolus* genus species is usually based on morphological characters, but many species also share similar conidial characters that often make it difficult to identify a particular species. Accurate and rapid diagnosis of a pathogen requires the use of modern molecular genetic methods based on PCR. In 2017, Kang et al. from the National Institute of Crop Science developed species-specific primers (Bz-F/Bz-R) for classical PCR to diagnose the *B. zeicola* pathogen. As a result, the scientists validated the resulting test system for certain criteria – analytical sensitivity and specificity – and recommended it for use in identifying *B. zeicola* species in the laboratory.

For accurate identification, it is also possible to confirm the species by analyzing the nucleotide sequences of the internal transcribed spacer (ITS) rDNA region, which allows to distinguish species of the genus *Cochliobolus*. Thus, compliance with the correctness of the stages of timely diagnosis of *Cochliobolus* species based on cultural and morphological characteristics and a combination of modern molecular methods is a priority in mycological research.

Такие же симптомы поражения отмечены у большинства видов рода *Cochliobolus*, они достаточно похожи между собой, поэтому первоначальное определение вида *B. zeicola* в полевых и лабораторных условиях бывает достаточно затруднительным. Различие близкородственных видов на основе одних только симптомов проблематично (Manamgoda et al., 2014).

Идентификация видов рода *Cochliobolus* обычно основана на морфологических характеристиках, однако многие виды также имеют сходные конидиальные признаки, по которым зачастую трудно идентифицировать конкретный вид. Для точной и быстрой диагностики патогена требуется применение современных молекулярно-генетических методов, основанных на проведении ПЦР. В 2017 г. Kang et al. из National Institute of Crop Science разработали видоспецифичные праймеры (Bz-F/Bz-R) для проведения классической ПЦР в целях диагностирования патогена *B. zeicola*. В результате ученые валидировали полученную тест-систему на определенные критерии – аналитические чувствительность и специфичность – и рекомендовали к применению для идентификации вида *B. zeicola* в лабораторных условиях.

Для точной идентификации возможно также подтверждение вида с помощью анализа нуклеотидных последовательностей участка внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS) рДНК, который позволяет различить виды рода *Cochliobolus*. Таким образом, соблюдение правильности этапов своевременной диагностики видов *Cochliobolus* на основе культурально-морфологических характеристик и сочетания современных молекулярных методов является приоритетным направлением в проведении микологических исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом изучения являлись изоляты карантинного вида *B. zeicola*, выделенные в результате исследования подкарантинной продукции семенного материала растений кукурузы импортного происхождения и полученные за период 2017–2021 гг. Для сравнительного анализа были использованы изоляты близкородственных видов *B. sorokiniana* Shoemaker, *B. maydis* (Y. Nisik. & C. Miyake) Shoem., *B. zeae* Sivan. и виды родов *Fusarium* и *Alternaria*, присутствовавшие на растениях кукурузы.

В ходе работы использовали последовательную схему микологических исследований, состоящую из визуального, биологического, морфологического и молекулярно-генетического методов диагностики.

При поступлении образцов семян кукурузы от каждого образца отбирали пробы семян в количестве 400 шт. как с симптомами заболевания, прежде всего обращая внимание на щуплые, темные, сморщенные, с темным налетом зерновки, так и без симптомов заболевания. Далее для развития видимых структур гриба (спороншения) закладывали образцы во влажные камеры и на питательную среду. Для этого отобранные семена промывали под проточной водой и стерилизовали путем погружения в этиловый спирт на 1–2 мин, с последующим отмыванием в дистиллированной воде (в течение 3–5 мин). Подготовленный материал раскладывали в чашки Петри на увлажненную фильтровальную

MATERIALS AND METHODS

The object of the study was isolates of the quarantine species *B. zeicola*, isolated as a result of the study of regulated seed material of corn plants of imported origin and obtained for the period 2017–2021. For comparative analysis, isolates of closely related species. *B. sorokiniana* Shoemaker, *B. maydis* (Y. Nisik. & C. Miyake) Shoem., *B. zeae* Sivan. and species of the genera *Fusarium* and *Alternaria*, presented on corn plants, were used.

In the course of the work, a consistent scheme of mycological studies was used, consisting of visual, biological, morphological and molecular genetic diagnostic methods.

Once received corn seeds, 400 seed samples were taken from each sample, both with disease symptoms, primarily paying attention to feeble, dark, shriveled grains with a dark coating, and without symptoms. Then, for the development of visible structures of the fungus (sporulation), samples were placed in moist chambers on a nutrient medium. To do this, the selected seeds were washed under running water and sterilized by immersion in ethyl alcohol for 1–2 min, followed by washing in distilled water (for 3–5 min). The prepared material was placed in Petri dishes on moistened filter paper and in parallel on a nutrient medium (2% potato dextrose agar (PDA), pH 5.5). Corn samples were incubated at 25 °C followed by daily viewing for 10 days.

On the 3rd day, a velvety dense grayish-brownish-olive mycelium of the fungus appeared in Petri dishes. On the 7th day, under a binocular, it was possible to see formed conidiophores with conidia of the fungus on the developed mycelium. Subsequently, the mycelium of the fungus was sifted onto Petri dishes with PDA nutrient medium and isolated into a pure culture.

The species was identified by the morphological method with 25 spore measurements. When identifying, the size of conidia, their shape, color, number of septa and presence of hilum were taken into account.

To confirm the species belonging of the pathogen, classical PCR was used using specific primers Bz-F (5'-GAGAATACCGACCATGTGG-3') and Bz-R (5'-TATCTTTAGCTTCCTGTTTGGTC-3') with an amplification product size of 268 bp, developed by Korean scientists (Kang et al., 2018).

The applicability of the recommended primers according to Kang et al. was preliminarily assessed according to performance criteria. To determine the analytical sensitivity, a suspension from a pure culture of the *B. zeicola* standard sample with a DNA concentration of 24.2 ng/ml was used and a series of 10-fold dilutions was prepared in 3-fold replication. To determine the analytical specificity, isolates of the target *B. zeicola* cultures were used, as well as a number of fungal cultures obtained from corn plants as a result of studies in 2017–2021.

For this study, the mycelium was collected in 1.5 ml tubes with 200 µl extraction buffer, ground with a microtube pestle. DNA extraction was carried out using a ready-made commercial kit “Fito-Sorb” Syntol (Russia) according to the manufacturer’s instructions.

PCR was performed in a T100 Touch Thermal Cycler, Bio-Rad (USA). A mixture of reagents for setting

бумагу и параллельно на питательную среду (2%-й картофельно-глюкозный агар (КГА), pH 5,5). Инкубировали образцы кукурузы при 25 °С с последующим ежедневным просмотром в течение 10 дней.

На 3-и сутки в чашках Петри появился бархатистый плотный серовато-коричнево-оливковый мицелий гриба. На 7-е сутки под бинокляром можно было разглядеть на развившемся мицелии сформировавшиеся конидиеносцы с конидиями гриба. В дальнейшем мицелий гриба отсевали на чашки Петри с питательной средой КГА и выделяли в чистую культуру.

Определение вида проводилось морфологическим методом с 25 промерами спор. При идентификации учитывалась размеры конидий, их форма, цвет, число перегородок, наличие хилума.

Для подтверждения видовой принадлежности патогена применяли классическую ПЦР с использованием специфичных праймеров Vz-F (5'-GAGAATACCGACCATGTGG-3') и Vz-R (5'-TATCTTTAGCTTCCSTGTTTGGTC-3') с размером продукта амплификации 268 п. о., разработанных корейскими учеными (Kang et al., 2018).

Предварительно проводили оценку применимости рекомендуемых праймеров по Kang et al. по рабочим критериям эффективности. Для определения аналитической чувствительности использовали суспензию из чистой культуры стандартного образца *B. zeicola* с концентрацией ДНК 24,2 нг/мл и готовили серию 10-кратных разведений в 3-кратной повторности. Для определения аналитической специфичности использовали изоляты целевых культур *B. zeicola*, а также ряд культур грибов, полученных с растений кукурузы в результате проведения исследований в 2017–2021 гг.

Для данного исследования мицелий отбирали в пробирки объемом 1,5 мл с экстрагирующим буфером 200 мкл, растирали пестиком для микропробирок. Выделение ДНК проводили с использованием готового коммерческого набора «Фито-Сорб» ООО «Синтол» (Россия) согласно инструкции производителя.

ПЦР проводили в термоджиклере T100 Touch Thermal Cycler, Bio-Rad (США). Смесь реактивов для постановки одной реакции объемом 25 мкл содержала 5 мкл ПЦР-буфера 5x Mas^{DD}TaqMix-2025 (ЗАО «Диалат Лтд.», Россия), 1,5 мМ каждого праймера, 2 нг целевой ДНК и стерильной воды.

Температурно-временные условия амплификации на приборе составляли: 1 цикл 3 мин – 94 °С; 35 циклов: 30 с – 94 °С, 30 с – 55 °С, 90 с – 72 °С; 1 цикл 7 мин – 72 °С.

После амплификации 4 мкл ПЦР-продукта раскапывали в лунки 1,0%-го агарозного геля с бромистым этидием в 0,5 × TBE-буфере и разделяли

up one reaction with a volume of 25 µl contained 5 µl of PCR buffer 5x MasDDTaqMix-2025 (Dialat Ltd., Russia), 1,5 µM of each primer, 2 ng of target DNA and sterile water.

The temperature-time conditions of amplification on the device were: 1 cycle 3 min – 94 °C; 35 cycles: 30 s – 94 °C, 30 s – 55 °C, 90 s – 72 °C; 1 cycle 7 min – 72 °C.

After amplification, 4 µl of the PCR product was dropped into the wells of a 1.0% agarose gel with ethidium bromide in 0.5 × TBE buffer, and the fragments were separated by length under the action of an external electric field. Subsequently, visualization was performed using a gel-documenting system.

In parallel, for the studied isolates, the nucleotide sequences of internal transcribed spacers were obtained (ITS5 5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'/ITS4 5'-TCCTCCGTTATTGATATGC-3') (White et al., 1990). The composition of the reagents for setting up one reaction was the same as for PCR according to Kang et al. The temperature-time conditions of amplification were: 1 cycle 3 min – 94 °C; 30 cycles: 30 s – 94 °C, 30 s – 52 °C, 90 s – 72 °C; 1 cycle 7 min – 72 °C. After amplification, the size of the PCR product was 550 bp.

The amplified samples were sequenced on a 3500 Applied Biosystems genetic analyzer (USA). Subsequently, the obtained nucleotide sequences of the ITS region of rDNA were processed using the BioEdit program and compared with the reference sequences of isolates from GenBank NCBI (ncbi.nlm.nih.gov). Phylogenetic analysis of isolates with the establishment



Рис. 1. Зерновки, пораженные возбудителем *Bipolaris zeicola*, и конидиеносцы гриба (а–b) (фото А.В. Камченкова)



Fig. 1. Corn seeds affected by the pathogen *Bipolaris zeicola*, and conidiophores of the fungus (a–b) (photos by A.V. Kamchenkov)



Рис. 2. Конидии *B. zeicola* (а–b) (увеличение × 40) (фото А.В. Камченкова)



Fig. 2. Conidia *B. zeicola* (a–b) (x 40) (photos by A.V. Kamchenkov)

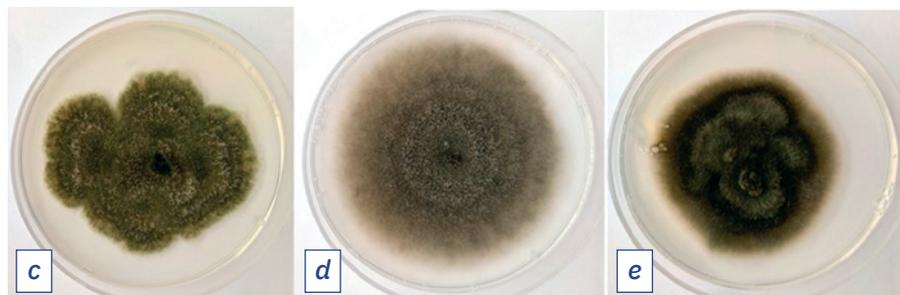
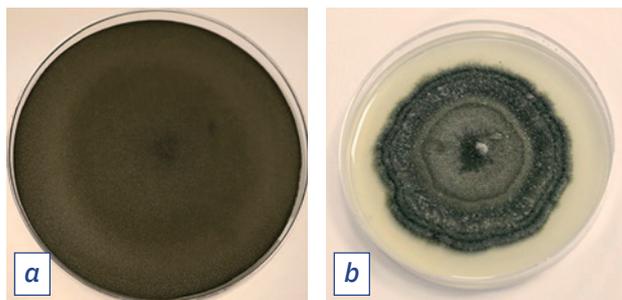


Рис. 3. Колонии *B. zeicola* на среде КГА (а–е) (фото Ю.В. Цветковой, И.П. Дудченко)

Fig. 3. Colonies of *B. zeicola* on PDA medium (a–e) (photos by Yu.V. Tsvetkova, I.P. Dudchenko)

фрагменты по длине под действием внешнего электрического поля. В дальнейшем проводили визуализацию с использованием гель-документирующей системы.

Параллельно для изучаемых изолятов были получены нуклеотидные последовательности внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS5 5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'/ITS4 5'-TCCTCCGCTTATGATATGC-3') (White et al., 1990). Состав реактивов для постановки одной реакции был такой же, как для ПЦР по Kang et al. Температурно-временные условия амплификации составляли: 1 цикл 3 мин – 94 °С; 30 циклов: 30 с – 94 °С,

and comparison of homologous characters of isolates was carried out using the MEGA X software.

As a result of the primary visual inspection of regulated corn seed material, signs of damage to the grains by the pathogen *B. zeicola* were noted. Affected grains were characterized by non-marketable appearance, namely, they had a wrinkled, cracking surface with the presence of a dark sooty coating (Fig. 1). When viewed under binoculars, small groups or isolated dark brown conidiophores of the fungus are noted.

Microscopically, conidia of the species *B. zeicola* were characterized in shape from straight to fusiform, occasionally curved, with a slightly widened middle and rounded ends on both sides, olive-brown or dark brown in color, contained from 1 to 12 partitions, in size 45.7–64.3 × 10.7–12.6 μm, the average size was 53.7 ± 0.3 × 13.2 ± 0.5 μm. The hilum (the place of attachment of the conidia to the conidiophore) was absent in most conidia, in some it slightly protruded beyond the contour of the spore (Fig. 2).

When viewing dishes with a nutrient medium on the 7th day, the grown colony of *B. zeicola* was characterized by a velvety dense structure, brownish-olive color, with a grayish center. Later, on the 14th day, it acquired a darker brown color, with the formation of weak concentric spore-bearing circles (Fig. 3).

Таблица 2
Морфологические характеристики конидий видов рода *Bipolaris*

Морфологические характеристики	<i>B. turcica</i>	<i>B. zeicola</i>	<i>B. maydis</i> , паса Т	<i>B. sorokiniana</i>
Размеры конидий (мкм)	45–145 x 11–33, чаще 90–100 x 20–24	21–94 x 9–19, чаще 50–60 x 13–14	25–126 x 20–23, чаще 80–90 x 13–14	20–135 x 12–34
Форма конидий	веретеновидные, прямые, иногда слегка согнутые, с утолщенной оболочкой	эллипсоидальные, веретеновидные, прямые, реже согнутые, с несколько расширенной серединой и незаостренными округлыми концами	эллипсоидальные, сильно согнутые, с тонкой оболочкой, расширенные к середине, постепенно суживающиеся к концам	удлиненно-яйцевидные, с закругленными концами
Окраска конидий	от прозрачно-дымчатых или светло-оливковых до желтовато-бурых и почти черных при созревании	оливково-бурые или темно-коричневые	от дымчатых и светло-оливковых до золотисто-коричневых	оливково-коричневые
Число перегородок	1–13, чаще 4–6	0–12, чаще 6–8	2–13, чаще 8	3–10
Хилум	темный, узкий, сильно выступает за контур споры	темный, малозаметный, слабо выступающий за контур споры	широкий, незаметный, не выступающий за контур споры	темный, слегка выступающий, усеченный

Table 2
Morphological characters of conidia of species of the genus *Bipolaris*

Morphological characters	<i>B. turcica</i>	<i>B. zeicola</i>	<i>B. maydis</i> , T race	<i>B. sorokiniana</i>
Conidia size (µm)	45–145 x 11–33, more often 90–100 x 20–24	21–94 x 9–19, more often 50–60 x 13–14	25–126 x 20–23, more often 80–90 x 13–14	20–135 x 12–34
Conidia shape	spindle-shaped, straight, sometimes slightly bent, with a thickened shell	ellipsoidal, fusiform, straight, rarely bent, with a slightly widened middle and non-pointed rounded ends	ellipsoidal, strongly bent, with a thin shell, widened towards the middle, gradually tapering towards the ends	elongated ovoid, with rounded ends
Conidia colour	from transparent smoky or light olive to yellowish brown and almost black when ripe	olive brown or dark brown	smoky and light olive to golden brown	olive brown
Number of septa	1–13, more often 4–6	0–12, more often 6–8	2–13, more often 8	3–10
Hilum	dark, narrow, protruding strongly beyond the contour of the spore	dark, inconspicuous, slightly protruding beyond the contour of the spore	wide, inconspicuous, not protruding beyond the contour of the spore	dark, slightly protruding, truncated

30 с – 52 °С, 90 с – 72 °С; 1 цикл 7 мин – 72 °С. После проведения амплификации размер ПЦР-продукта составлял 550 п. о.

Амплифицированные образцы секвенировали на генетическом анализаторе 3500 Applied Biosystems (США). В дальнейшем полученные нуклеотидные последовательности участка ITS рДНК обрабатывали с использованием программы BioEdit и сравнивали с эталонными последовательностями изолятов из GenBank NCBI (ncbi.nlm.nih.gov). Филогенетический анализ изолятов с установлением и сравнением гомологичных признаков изолятов проводили с использованием программы MEGA X.

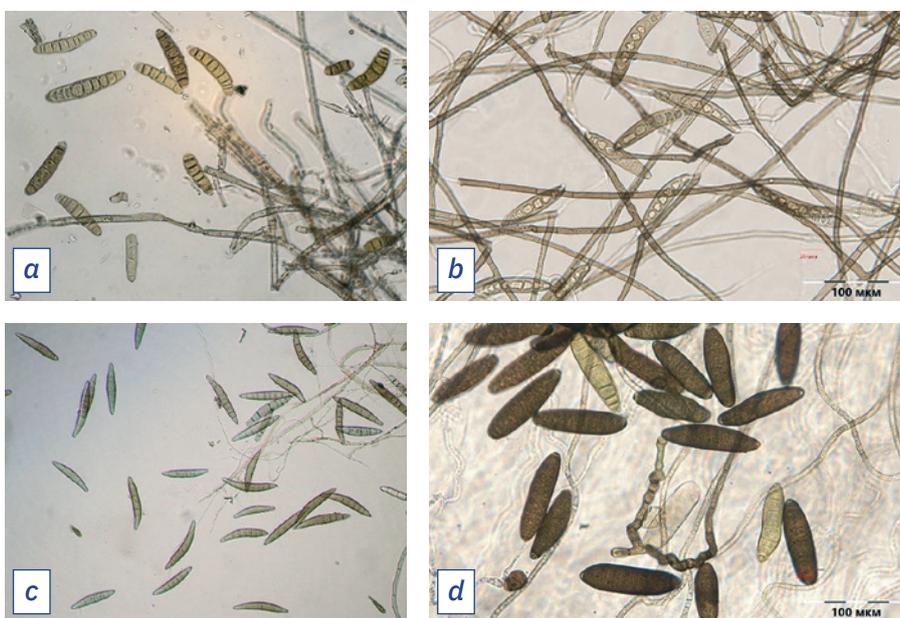


Рис. 4. Конидии видов рода *Bipolaris*: а – *B. zeicola*; б – *B. maydis*; с – *B. turcica*; д – *B. sorokiniana* (увеличение x 20; x 40) (фото И.П. Дудченко)

Fig. 4. Conidia of *Bipolaris* species: а – *B. zeicola*; б – *B. maydis*; с – *B. turcica*; д – *B. sorokiniana* (x 20; x 40) (photos by I.P. Dudchenko)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате первичного визуального осмотра подкарантинной продукции семенного материала кукурузы были отмечены признаки поражения зерновок возбудителем *B. zeicola*. Пораженные зерновки характеризовались нетоварным внешним видом, а именно, имели сморщенную, растрескивающуюся поверхность с присутствием темного сажистого налета (рис. 1). При просмотре под биноклем отмечены небольшие группы или отдельно стоящие темно-коричневые конидиеносцы гриба.

При микроскопировании конидии вида *B. zeicola* характеризовались по форме от прямых до веретеновидных, изредка попадались изогнутые, с немного расширенной серединой и округлыми концами с двух сторон, оливково-коричневого или темно-коричневого цвета, содержали от 1 до 12 перегородок, размером 45,7–64,3 × 10,7–12,6 мкм,

When diagnosing the quarantine pest *B. zeicola*, other species of the genus *Bipolaris* are often detected, which have similar cultural and morphological characters. For accurate identification, a number of characters are used, which together make it possible to identify the fungus species. Comparative characteristics are presented in table 2 and in figures 4–5.

As a result, a preliminary microscopic analysis showed that the morphological characters corresponded to *B. zeicola* species; molecular genetic methods were used to further study the pathogen.

In the process of work, species-specific primers Bz-F and Bz-R were tested to identify the species *B. zeicola*. As a result, analytical sensitivity and specificity

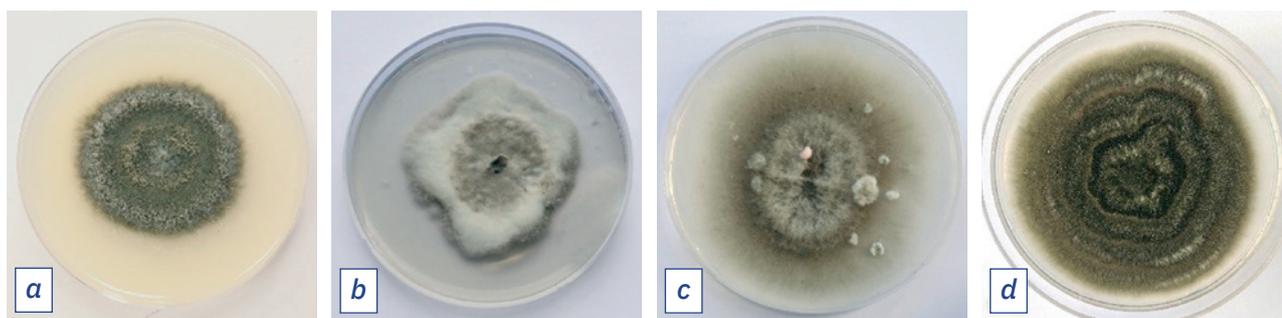


Рис. 5. Колонии видов рода *Bipolaris* на среде КГА: а – *B. turcica*; б, с – *B. maydis*; д – *B. sorokiniana* (фото И.П. Дудченко)

Fig. 5. Colonies of *Bipolaris* species on PDA medium: а – *B. turcica*; б, с – *B. maydis*; д – *B. sorokiniana* (photos by I.P. Dudchenko)

в среднем размер составлял $53,7 \pm 0,3 \times 13,2 \pm 0,5$ мкм. Хилум (место прикрепления конидий к конидиеносцу) у большинства конидий отсутствовал, у некоторых слабо выступал за контур споры (рис. 2).

При просмотре чашек с питательной средой на 7-е сутки подросшая колония *B. zeicola* характеризовалась бархатистой плотной структурой, коричневато-оливковой окраской, с сероватым центром. В дальнейшем, на 14-й день, она приобрела более темно-коричневую окраску, с образованием слабых концентрических спороносных кругов (рис. 3).

При диагностике карантинного организма *B. zeicola* часто встречаются другие виды рода *Bipolaris*, которые имеют сходные культурально-морфологические характеристики. Для точной идентификации используется ряд признаков, которые в совокупности позволяют определить видовую принадлежность гриба. Сравнительные характеристики представлены в таблице 2 и на рисунках 4, 5.

В результате предварительный микроскопический анализ показал, что морфологические признаки соответствовали виду *B. zeicola*, для дальнейшего изучения патогена применяли молекулярно-генетические методы.

В процессе работы апробированы видоспецифичные праймеры Bz-F и Bz-R для идентификации вида *B. zeicola*. В результате определены аналитические чувствительность и специфичность. По заключительным данным установлены рабочие критерии. В ходе исследования аналитическая чувствительность составила 0,0242 нг/мкл. Результаты представлены на рисунке 6 и в таблице 3.

Проведен анализ специфичности праймеров Bz-F и Bz-R с ДНК целевых изолятов *B. zeicola*, близкородственных *B. sorokiniana*, *B. zeae*, *B. maydis* и грибов, полученных в результате исследований подкарантинного материала кукурузы. Данные представлены в таблице 4. В результате проверки специфичности праймеров всех изолятов *B. zeicola* получены специфичные продукты размером 268 п. о. (рис. 7, 8). Близкородственные и сходные виды не давали продуктов амплификации ПЦР данного размера.

В результате исследований было установлено, что видоспецифичные праймеры Bz-F и Bz-R пригодны и применимы для проведения точной и быстрой идентификации *B. zeicola* в лабораторных условиях. Данная диагностическая система позволила выявить возбудителя в четырех разведениях

were determined. According to the final data, working criteria have been established. During the study, the analytical sensitivity was 0.0242 ng/μl. The results are presented in Figure 6 and Table 3.

There was performed specificity analysis of Bz-F and Bz-R primers with DNA of target isolates of *B. zeicola*, closely related to *B. sorokiniana*, *B. zeae*, *B. maydis* and fungi obtained as a result of studies of regulated corn. The data are presented in Table 4. As a result of testing the specificity of the primers of all *B. zeicola* isolates, specific products of 268 bp in size were obtained (Fig. 7, 8). Closely related and similar species did not produce PCR amplification products of this size.

As a result of the research, it was found that the species-specific primers Bz-F and Bz-R are suitable and applicable for accurate and rapid identification of *B. zeicola* in the laboratory. This diagnostic system made it possible to identify the pathogen in four DNA dilutions, the analytical sensitivity was 0.0242 ng/μl. The kit showed 100% analytical specificity for isolates of the target *B. zeicola* species.

In the course of a comparative analysis of the nucleotide sequences of the studied isolates of the genus *Bipolaris* in the region ITS4-5, 8S-ITS5 with database sequences, it was shown that the obtained sequences of the isolates clustered into homogeneous groups and belonged to four different species: *B. zeicola*, *B. maydis*, *B. sorokiniana* и *B. zeae* (Fig. 9).

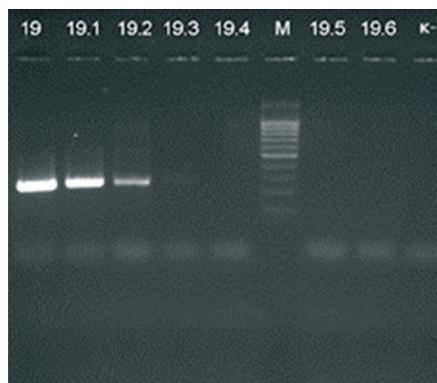


Рис. 6. Электрофореграмма с результатами аналитической чувствительности по Kang et al.

Fig. 6. Electropherogram with analytical sensitivity results according to Kang et al.

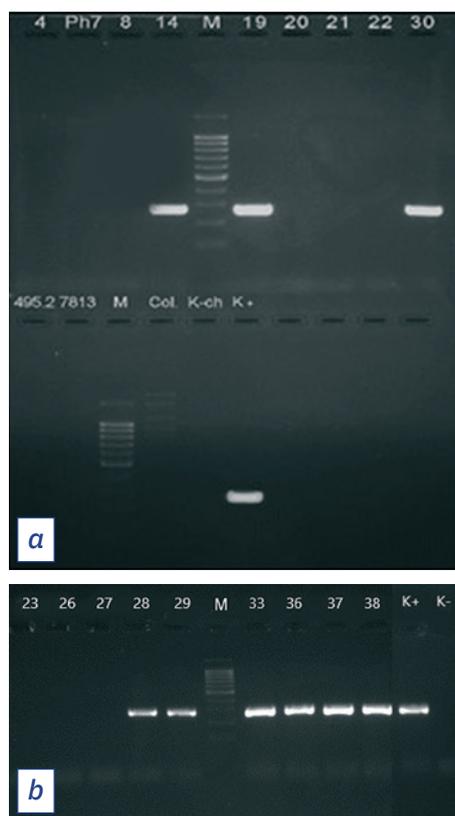


Рис. 7. Электрофореграммы с результатами аналитической специфичности выделенных изолятов по Kang et al. (a–b) (14, 19, 28, 29, 30, 33, 36, 37, 38 – изоляты *B. zeicola*; 4, 20, 22 – изоляты *B. sorokiniana*; 8, 21 – изоляты *B. maydis*; 23, 26, 27 – *B. zeae*; Ph7 – *Phytophthora ramorum*; 495.2 – *Diaporthe vaccini*; 7813 – *Monilinia fructicola*; Col – *Colletotrichum* sp.; K+ – положительный контроль; K-, K-ch – отрицательный контроль)

Fig. 7. Electrophoregrams with the results of the analytical specificity of isolated isolates according to Kang et al., 2018 (a–b) (14, 19, 28, 29, 30, 33, 36, 37, 38 – isolates of *B. zeicola*; 4, 20, 22 – isolates of *B. sorokiniana*; 8, 21 – isolates of *B. maydis*; 23, 26, 27 – *B. zeae*; Ph7 – *Phytophthora ramorum*; 495.2 – *Diaporthe vaccini*; 7813 – *Monilinia fructicola*; Col – *Colletotrichum* sp.; K+ – positive control; K-, K-ch – negative control)

ДНК, аналитическая чувствительность составила 0,0242 нг/мкл. Набор показал 100%-ю аналитическую специфичность по отношению к изолятам целевого вида *B. zeicola*.

В ходе проведения сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей изучаемых изолятов рода *Bipolaris* по участку ITS4-5, 8S-ITS5 с сиквенсами баз данных показано, что полученные последовательности изолятов кластеризовались в однородные группы и относились к четырем различным видам: *B. zeicola*, *B. maydis*, *B. sorokiniana* и *B. zeae* (рис. 9).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований из растительного и семенного материала кукурузы выделено 24 изолята, принадлежащих к роду *Bipolaris*: 13 изолятов вида *B. zeicola*, 5 изолятов вида *B. sorokiniana*, 3 изолята вида *B. zeae* и 3 изолята вида *B. maydis*. По данным исследования, вид *B. zeicola* был выявлен в 13 из 422 образцов семян кукурузы различного происхождения. Случаи выявления карантинного вида *B. zeicola* подтверждают высокий фитосанитарный риск проникновения

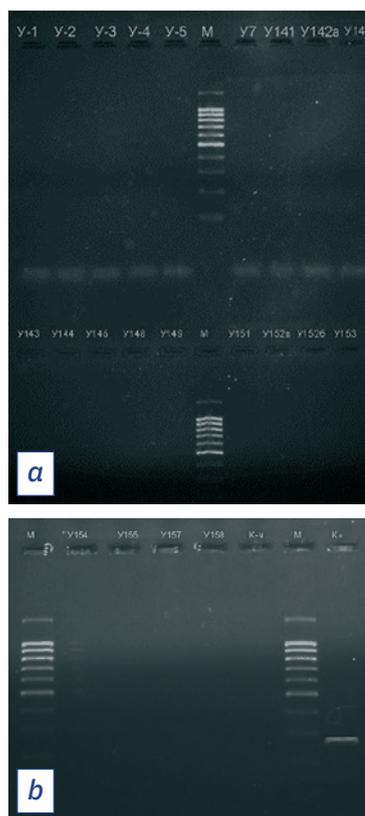


Рис. 8. Электрофореграммы с результатами аналитической специфичности выделенных нецелевых видов по Kang et al. (a–b) (Y1, Y141, Y142a, Y142b, Y143, Y148–Y151, Y152a, Y152b, Y153–Y155, Y157, Y158 – виды рода *Fusarium* sp.; Y7 – *F. sporotrichioides*; Y2 – *Alternaria alternata*; Y3–Y5 – *Alternaria* sp.; K+ – положительный контроль; K-ч – отрицательный контроль)

Fig. 8. Electrophoregrams with the results of the analytical specificity of isolated non-target species according to Kang et al., 2018 (a–b) (Y1, Y141, Y142a, Y142b, Y143, Y148–Y151, Y152a, Y152b, Y153–Y155, Y157, Y158 – *Fusarium* sp.; Y7 – *F. sporotrichioides*; Y2 – *Alternaria alternata*; Y3–Y5 – *Alternaria* sp.; K+ – positive control; K-ч – negative control)

CONCLUSION

As a result of the studies, 24 isolates belonging to the genus *Bipolaris* were isolated from corn plant and seed material: 13 isolates of *B. zeicola* species, 5 isolates of *B. sorokiniana* species, 3 isolates of *B. zeae* species, and 3 isolates of *B. maydis* species. According to the study, *B. zeicola* was identified in 13 out of 422 corn seed samples of various origins. Cases of detection of the quarantine species *B. zeicola* confirm the high phytosanitary risk of introduction of invasive species into the territory of the Russian Federation, therefore it is very important to timely check regulated products for the absence of quarantine fungi using modern diagnostic methods.

As a result of testing the species-specific primers Bz-F and Bz-R used for classical PCR, the studies showed the effectiveness of this test system and its applicability in the laboratory for accurate and rapid identification of the quarantine pathogen *C. carbonum* R.R. Nelson (= *B. zeicola* (Stout) Shoemaker).

Таблица 3
Результаты аналитической чувствительности праймеров Bz-F и Bz-R
Table 3
Analytical sensitivity results for the primers Bz-F и Bz-R

Разведения Dilutions	Номер дорожки на электрофореграмме Track number on the electropherogram	Повторности Repetitions	Количество ДНК, нг/мкл Amount of DNA, ng/ μ l	Наличие (+) или отсутствие (-) продукта амплификации размером 268 п. о. The presence (+) or absence of the 268 bp amplification product
0	19	1	24,2	+
		2		+
		3		+
1	19.1	1	2,42	+
		2		+
		3		+
2	19.2	1	0,242	+
		2		+
		3		+
3	19.3	1	0,0242	+
		2		+
		3		+
4	19.4	1	0,00242	-
		2		-
		3		-
5	19.5	1	0,000242	-
		2		-
		3		-
6	19.6	1	0,0000242	-
		2		-
		3		-
7	К-	1	0	-
		2		-
		3		-

инвазивных видов на территорию РФ, поэтому очень важно своевременно проверять подкарантинную продукцию на отсутствие карантинных грибов с помощью современных методов диагностики.

В результате проведения апробации видоспецифичных праймеров Bz-F и Bz-R, используемых для классической ПЦР, исследования показали эффективность данной тест-системы и применимость ее в лабораторных условиях для точной и быстрой идентификации карантинного возбудителя южной пятнистости кукурузы *C. carbonum* R.R. Nelson (= *B. zeicola* (Stout) Shoemaker).

Проведение предварительных культурально-морфологических и последующих молекулярно-генетических анализов подтвердило идентификацию карантинного вида *B. zeicola* в импортном

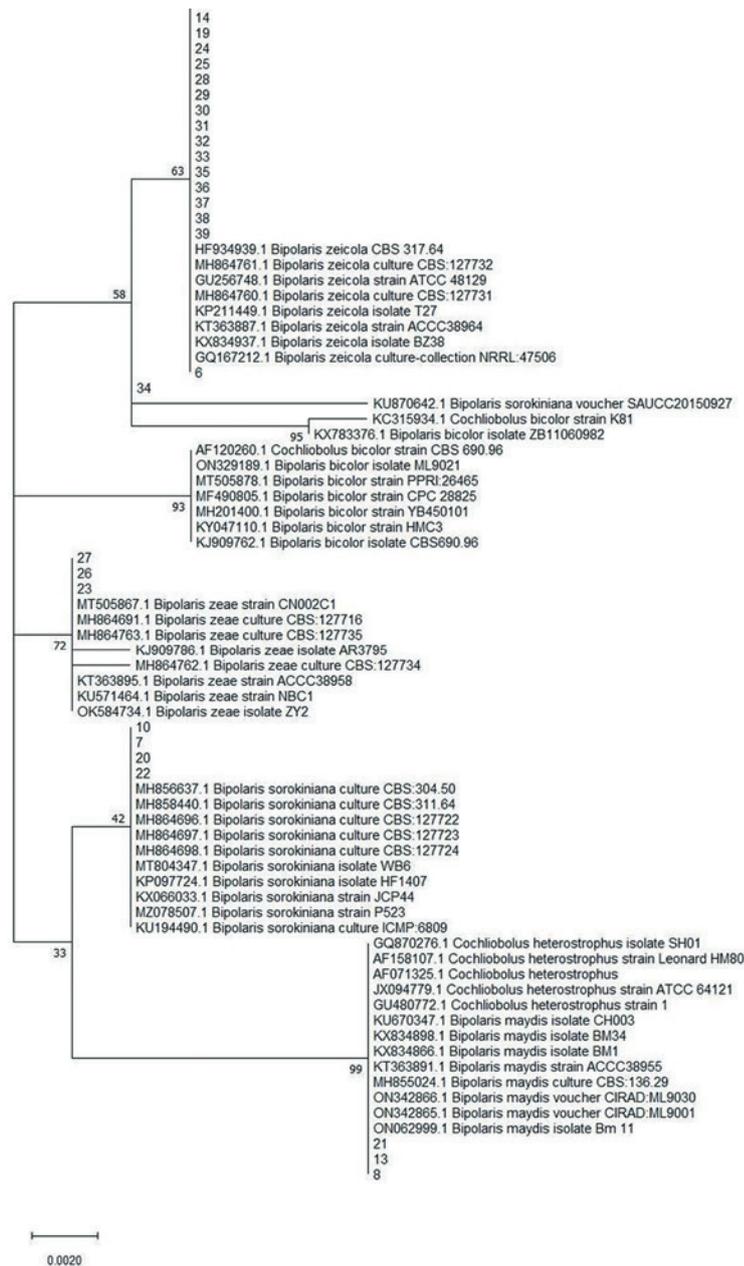


Рис. 9. Дендрограмма, построенная на основании последовательностей участков внутреннего транскрибируемого спейсера. Метод максимального правдоподобия, модель JC

Fig. 9. Dendrogram built on the basis of the sequences of sections of the internal transcribed spacer. Maximum likelihood method, JC model

Conducting preliminary cultural and morphological and subsequent molecular genetic analyzes confirmed the identification of the quarantine species *B. zeicola* in imported seed material. Thus, the combination of classical and modern molecular methods for diagnosing dangerous quarantine species in incoming regulated products guarantees the reliability of the results of mycological studies.

REFERENCES

1. Alexandrov I. The problem of leaf blight of maize and ways to solve it [Problema yuzhnogo

Таблица 4
Изоляты грибов рода *Cochliobolus*, выделенные в ходе работы

Table 4
Isolates of *Cochliobolus* sp. fungi isolated in the course of work

№ п/п	Номер изолята	Вид Species	Растение-хозяин	Host plant seeds	Страна происхождения	Origin
1	1	<i>B. zeicola</i> (G.L. Stout) Shoemaker	семена кукурузы	corn seeds	США	USA
2	2	<i>B. zeicola</i> (G.L. Stout) Shoemaker	семена кукурузы	corn seeds	США	USA
3	14	<i>B. zeicola</i> (G.L. Stout) Shoemaker	семена кукурузы	corn seeds	Франция	France
4	19	<i>B. zeicola</i> (G.L. Stout) Shoemaker	семена кукурузы	corn seeds	США	USA
5	28	<i>B. zeicola</i> (G.L. Stout) Shoemaker	семена кукурузы	corn seeds	–	–
6	29	<i>B. zeicola</i> (G.L. Stout) Shoemaker	семена кукурузы	corn seeds	–	–
7	30	<i>B. zeicola</i> (G.L. Stout) Shoemaker	семена кукурузы	corn seeds	Франция	France
8	33	<i>B. zeicola</i> (G.L. Stout) Shoemaker	семена кукурузы	corn seeds	–	–
9	34	<i>B. zeicola</i> (G.L. Stout) Shoemaker	семена кукурузы	corn seeds	–	–
10	36	<i>B. zeicola</i> (G.L. Stout) Shoemaker	семена кукурузы	corn seeds	–	–
11	37	<i>B. zeicola</i> (G.L. Stout) Shoemaker	семена кукурузы	corn seeds	–	–
12	38	<i>B. zeicola</i> (G.L. Stout) Shoemaker	семена кукурузы	corn seeds	–	–
13	39	<i>B. zeicola</i> (G.L. Stout) Shoemaker	семена кукурузы	corn seeds	–	–
14	4	<i>B. sorokiniana</i> Shoemaker	семена ячменя	barley seeds	–	–
15	20	<i>B. sorokiniana</i> Shoemaker	семена пшеницы	wheat seeds	–	–
16	22	<i>B. sorokiniana</i> Shoemaker	семена пшеницы	wheat seeds	–	–
17	10	<i>B. sorokiniana</i> Shoemaker	семена пшеницы	wheat seeds	–	–
18	7	<i>B. sorokiniana</i> Shoemaker	семена ячменя	barley seeds	–	–
19	23	<i>B. zea</i> Sivan.	–	–	–	–
20	26	<i>B. zea</i> Sivan.	–	–	–	–
21	27	<i>B. zea</i> Sivan.	–	–	–	–
22	8	<i>B. maydis</i> (Y. Nisik. & C. Miyake) Shoem.	семена кукурузы	corn seeds	Россия	Russia
23	13	<i>B. maydis</i> (Y. Nisik. & C. Miyake) Shoem.	семена кукурузы	corn seeds	КНР	China
24	21	<i>B. maydis</i> (Y. Nisik. & C. Miyake) Shoem.	семена кукурузы	corn seeds	Россия	Russia

семенном материале. Таким образом, сочетание классических и современных молекулярных методов диагностики опасных карантинных видов в поступающей подкарантинной продукции гарантирует надежность результатов микологических исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров И., 1992. Проблема южного гельминтоспориоза кукурузы и способы ее решения. – Проблемы карантина растений, № 2: 103–107.
2. Боровская М., Матичук В., 1990. Новый вид гельминтоспориозной пятнистости на кукурузе в Молдавии. – Изв. АН Молдавской ССР: 25–38.
3. Мартынюк Т., 2003. Возбудители грибных болезней листьев кукурузы (*Zea mays*) в Приморском крае. – Микология и фитопатология, 37 (3): 80–85.
4. Cipollone J. et al., 2020. First report of *Bipolaris zeicola* on barley worldwide. – Crop Protection, Vol. 135: 105188. URL: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105188>.
5. Hooker A., 1974. Field reaction of corn inbreds to Helminthosporium leaf spot. – Plant Dis. Repr., 58: 909–911.
6. Kang I. et al., 2018. Simple Detection of *Cochliobolus* Fungal Pathogens in Maize. – Plant Pathol J.,

gel'mintosporioza kukuruzy i sposoby yeye resheniya]. *Plant Quarantine Issues*, 1992; 2: 103–107 (in Russian).

2. Borovskaya M., Matichuk V. A new type of leaf blight of maize in Moldova [Novyy vid gel'mintosporioznoy pyatnistosti na kukuruze v Moldavii]. *Izv. Academy of Sciences of the Moldavian SSR*: 1990; 25–38 (in Russian).

3. Martynyuk T. Causative agents of fungal diseases of corn leaves (*Zea mays*) in Primorsky Krai [Vozbuditeli gribnykh bolezney list'yev kukuruzy (*Zea mays*) v Primorskom kraye]. *Mycology and Phytopathology*, 2003; 37 (3): 80–85 (in Russian).

4. Cipollone J. et al. First report of *Bipolaris zeicola* on barley worldwide. *Crop Protection*, 2020; Vol. 135: 105188. URL: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105188>.

5. Hooker A. Field reaction of corn inbreds to Helminthosporium leaf spot. *Plant Dis. Repr.*, 1974; 58: 909–911.

6. Kang I. et al. Simple Detection of *Cochliobolus* Fungal Pathogens in Maize. *Plant Pathol J.*, 2018;

34 (4): 327–334. URL: <https://doi.org/10.5423/PPJ.FT.10.2017.0209>.

7. Manamgoda D. et al., 2011. *Cochliobolus*: an overview and current status of species. – *Fungal Diversity*, Vol. 51: 3–42. URL: <https://doi.org/10.1007/s13225-011-0139-4>.

8. Manamgoda D. et al., 2014. The genus *Bipolaris*. – *Studies in mycology*, Vol. 79: 221–288. URL: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.10.002>.

9. Rabie A. El-Shafey et al., 2018. Incidence and Molecular Identification of *Cochliobolus carbonum* as Causal Organism of Rice Seedling Blight. – *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7 (4): 652–662.

10. Ullstrup A., 1944. Further studies on a species of *Helminthosporium* parasitizing corn. – *Phytopathology*, Vol. 34: 214–222.

11. White T. et al., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. – New York: Academic Press, 315–322 p.

12. Справочник по карантинному фитосанитарному состоянию территорий государств – участников СНГ на 01.01.2018. – URL: <https://vniikr.ru/files/spravochnik/%D0%BD%D0%B0%2001.01.2019.pdf> (дата обращения: 02.08.2022).

13. EPPO Global Database. – URL: <https://gd.eppo.int/taxon/COCHCA/distribution> (дата обращения: 02.08.2022).

14. Index Fungorum. – URL: <http://www.speciesfungorum.org> (дата обращения: 02.08.2022).

15. National Center for Biotechnology Information. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (дата обращения: 02.08.2022).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Камченков Александр Владимирович, заведующий лабораторией микологии ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; e-mail: akamchenkov@mail.ru.

Цветкова Юлия Владиславовна, младший научный сотрудник лаборатории микологии ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; аспирант биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия; ORCID 0000-0002-4334-9224, e-mail: yutska@mail.ru.

Кузнецова Анна Александровна, старший научный сотрудник научно-методического отдела микологии и гельминтологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0001-8443-2641, e-mail: kyuznec@bk.ru.

Дудченко Ирина Петровна, старший научный сотрудник научно-методического отдела микологии и гельминтологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0003-0169-414X, e-mail: irinafito129@mail.ru.

Усманова Гульназ Радиковна, студент ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева», г. Москва, Россия; e-mail: gulnaz.usmanova005@mail.ru.

34 (4): 327–334. URL: <https://doi.org/10.5423/PPJ.FT.10.2017.0209>.

7. Manamgoda D. et al. *Cochliobolus*: an overview and current status of species. *Fungal Diversity*, 2011; Vol. 51: 3–42. URL: <https://doi.org/10.1007/s13225-011-0139-4>.

8. Manamgoda D. et al. The genus *Bipolaris*. *Studies in mycology*, 2014; Vol. 79: 221–288. URL: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.10.002>.

9. Rabie A. El-Shafey et al. Incidence and Molecular Identification of *Cochliobolus carbonum* as Causal Organism of Rice Seedling Blight. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 2018; 7 (4): 652–662.

10. Ullstrup A. Further studies on a species of *Helminthosporium* parasitizing corn. *Phytopathology*, 1944; Vol. 34: 214–222.

11. White T. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. New York: Academic Press, 1990, 315–322 p.

12. Reference book on the quarantine phytosanitary status of the territories of the CIS member states as of 01.01.2018. URL: <https://vniikr.ru/files/spravochnik/%D0%BD%D0%B0%2001.01.2019.pdf> (last accessed: 02.08.2022).

13. EPPO Global Database. URL: <https://gd.eppo.int/taxon/COCHCA/distribution> (last accessed: 02.08.2022).

14. Index Fungorum. URL: <http://www.speciesfungorum.org> (last accessed: 02.08.2022).

15. National Center for Biotechnology Information. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (last accessed: 02.08.2022).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Aleksandr Kamchenkov, Head of Mycology Laboratory, Testing Laboratory Center, FGBU “VNIIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; e-mail: akamchenkov@mail.ru.

Yulia Tsvetkova, Junior Researcher, Mycology Laboratory, Testing Laboratory Center, FGBU “VNIIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; PhD student, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; ORCID 0000-0002-4334-9224, e-mail: yutska@mail.ru.

Anna Kuznetsova, Senior Researcher, Research and Methodology Department of Mycology and Helminthology, FGBU “VNIIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0001-8443-2641, e-mail: kyuznec@bk.ru.

Irina Duchenko, Senior Researcher, Research and Methodology Department of Mycology and Helminthology, FGBU “VNIIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0003-0169-414X, e-mail: irinafito129@mail.ru.

Gulnaz Usmanova, student of Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia; e-mail: gulnaz.usmanova005@mail.ru.

Апробация метода ПЦР для видовой идентификации рисовой листовой нематоды *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942

А.В. ИВАНОВ¹, М.В. УШКОВА²

ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия

¹ e-mail: tonijons8@mail.ru

² e-mail: ushkovamariavladislavovna@gmail.com

АННОТАЦИЯ

Статья посвящена *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942 – рисовой листовой нематоды. Она распространена во многих странах мира, возделывающих рис. В настоящее время она исключена из Единого перечня карантинных объектов Евразийского экономического союза, однако является регулируемой рядом стран – импортеров российской продукции.

Вредитель является полифагом и поражает большой круг растений. В странах Европейской и Средиземноморской организации по карантину и защите растений (ЕОКЗР) основными растениями-хозяевами, которые подвергаются наибольшему риску заражения нематодой *A. besseyi*, являются рис и клубника (PM 7/39 (1), 2004). Поскольку рис является важным продуктом питания, по посевным площадям и валовым сборам зерна он занимает в мировом земледелии второе (после пшеницы) место.

В статье обобщена и проанализирована научная информация по географическому распространению, вредоносности рисовой листовой нематоды *A. besseyi*, ее биоэкологическим особенностям, методу морфологической диагностики. Изучены методы молекулярно-генетической идентификации рисовой листовой нематоды *A. besseyi*, применяемые в зарубежных исследованиях. При проведении наших исследований использовали нематод, собранных во время экспедиций на Дальний Восток (Приморский край, Ханкайский район) и в Краснодарский край Российской Федерации. Проведена видовая идентификация нематод по морфологическим признакам в соответствии с методическими рекомендациями по выявлению и идентификации рисовой нематоды *Aphelenchoides besseyi* Christie (MP ВНИИКР № 89-2016). Для лабораторного исследования используют как морфологические, так и молекулярные методы. Разработка и применение современных методов диагностики в области карантина растений являются актуальными для выявления и идентификации рисовой листовой нематоды *A. besseyi*.

Проведено исследование с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием смесей для амплификации коммерческого

Approbation of the PCR method for species identification of *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942

A.V. IVANOV¹, M.V. USHKOVA²

FGBU "All-Russian Plant Quarantine Center" (FGBU "VNIIKR"), Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia

¹ e-mail: tonijons8@mail.ru

² e-mail: ushkovamariavladislavovna@gmail.com

ABSTRACT

The article is dedicated to *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942 – rice leaf nematode. It is widespread in many rice-growing countries. Currently, it is excluded from the Common List of Quarantine Objects of the Eurasian Economic Union, however, it is regulated by a number of countries importing Russian products.

The pest is polyphagous and infects a wide range of plants. In the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) countries, rice and strawberries are the main hosts most at risk from *A. besseyi* infestation (PM 7/39 (1), 2004). Since rice is an important food product, it occupies the second place (after wheat) in world agriculture in terms of sown area and gross grain harvest.

The article summarizes and analyzes scientific information on the geographical distribution, harmfulness of the rice leaf nematode *A. besseyi*, its bioecological features, and the method of morphological diagnosis. The methods of molecular genetic identification of the rice leaf nematode *A. besseyi* used in foreign research papers have been studied. When conducting our research, we used nematodes collected during expeditions to the Far East (Primorsky Krai, Khankaisky District) and Krasnodar Krai of the Russian Federation. The species identification of nematodes by morphological characteristics was carried out in accordance with the guidelines for the detection and identification of the rice nematode *Aphelenchoides besseyi* Christie (MR VNIIKR No. 89-2016). For laboratory research, both morphological and molecular methods are used. The development and application of modern diagnosis methods in the field of plant protection are relevant for the detection and identification of the rice leaf nematode *A. besseyi*.

The study was conducted with polymerase chain reaction (PCR) using commercial amplification mixtures 5x Mas^{DD}Taq MIX-2025 and 5x Mas^{OR}Taq MIX-2025 Dialat Ltd. (Russia), as well as 5x ScreenMix,

производства 5x Mas^{DD}Taq MIX-2025 и 5x Mas^{OR}Taq MIX-2025 ЗАО «Диалат Лтд.» (Россия), а также 5x ScreenMix, 5x ScreenMix-HS и 5x ScreenMix-HS (UDG) ЗАО «Евроген» (Россия).

Ключевые слова. Карантин растений, молекулярно-генетический метод, полимеразная цепная реакция, рисовая листовая нематода, морфологические признаки, морфометрия.



ВВЕДЕНИЕ

Поскольку рис является ценным продуктом питания, по посевным площадям и валовым сборам зерна он занимает в мировом земледелии второе (после пшеницы) место. Основные площади этой культуры сосредоточены в странах Юго-Восточной Азии: Индии, Пакистане, Вьетнаме и Китае (Харченко, Рубан, 2015). В России рис возделывают в девяти регионах. Ключевым регионом возделывания является Краснодарский край. По итогам 2021 года 73,6% риса было собрано в Краснодарском крае, 9,8% – в Республике Дагестан, 6,6% – в Ростовской области, 4,4% – в Республике Адыгее, 1,9% – в Астраханской области, 1,8% – в Приморском крае. Также рис возделывают в Чеченской Республике (1,0%), Республике Калмыкии (0,8%), Еврейской автономной области (0,03%). Основными импортерами российского риса на 2021 год являлись следующие страны: Турция, Монголия, Казахстан, Азербайджан, Украина, Албания, Беларусь, Бельгия, Иордания, Израиль, Армения, Таджикистан, Грузия, США, Республика Молдова, ОАЭ, Киргизия, Китай и другие (<http://stat.customs.gov.ru/analysis>).

Среди факторов, лимитирующих рост урожайности риса и других культур, большое значение имеют болезни и вредители (Деккер, 1972). Нематоды снижают семенные и товарные качества растительной продукции. В процессе питания нарушается целостность клеток растительной ткани риса (Попова, 2001, 2004). Вред, причиняемый нематодами, усугубляется тем, что они способствуют распространению грибных, вирусных и бактериальных заболеваний растений (Костылев, 2011).

Одним из вредителей риса является листовая нематода *Aphelenchoides besseyi* Christie (1942), вызывающая значительную потерю урожая в большинстве рисосеющих регионов тропиков и субтропиков. Рисовая нематода *A. besseyi* считается субтропическим и тропическим видом, но встречается также в умеренных широтах. Беловершинность, вызываемая рисовой листовой нематодой *A. besseyi*, также называется афеленхоидозом и известна более 100 лет, обнаружена впервые в Японии в 1915 г. (Харченко, Рубан, 2015). Рисовая листовая нематода распространена во многих странах мира, возделывающих рис (рис. 1) (Шестиперов, Савитиков, 1995; Brown et al., 1993).

В отдельные годы поражение нематодами принимает характер эпифитотий, вызывая значительное ухудшение качества зерна. В Краснодарском

5x ScreenMix-HS and 5x ScreenMix-HS (UDG) Evrogen (Russia).

Key words. Plant protection, molecular genetic method, polymerase chain reaction, rice leaf nematode, morphological characteristics, morphometry.

INTRODUCTION

Since rice is a valuable food product, it occupies the second (after wheat) place in world agriculture in terms of sown area and gross grain harvest. The main areas of this culture are concentrated in the countries of Southeast Asia: India, Pakistan, Vietnam and China (Kharchenko, Ruban, 2015). In Russia, rice is cultivated in nine regions. The key region of cultivation is Krasnodar Krai. At the end of 2021, 73.6% of rice was harvested in Krasnodar Krai, 9.8% – in the Republic of Dagestan, 6.6% – in Rostov Oblast, 4.4% – in the Republic of Adygea, 1.9% – in Astrakhan Oblast, 1.8% – in Primorsky Krai. Rice is also cultivated in the Chechen Republic (1.0%), the Republic of Kalmykia (0.8%), the Jewish Autonomous Region (0.03%). The main importers of Russian rice for 2021 were the following countries: Turkey, Mongolia, Kazakhstan, Azerbaijan, Ukraine, Albania, Belarus, Belgium, Jordan, Israel, Armenia, Tajikistan, Georgia, USA, Republic of Moldova, UAE, Kyrgyzstan, China, etc. (<http://stat.customs.gov.ru/analysis>).

Among the factors limiting the growth of yields of rice and other crops, diseases and pests are of great importance (Dekker, 1972). Nematodes reduce the seed and commercial qualities of plant products. In the process of nutrition, the integrity of rice plant tissue cells is disturbed (Popova, 2001, 2004). The harm caused by nematodes is exacerbated by the fact that they contribute to the spread of fungal, viral and bacterial plant diseases (Kostylev, 2011).

One of the rice pests is the leaf nematode *Aphelenchoides besseyi* Christie (1942), causing significant yield loss in most rice-growing regions of the tropics and subtropics. The rice leaf nematode *A. besseyi* is considered a subtropical and tropical species, but also occurs in temperate latitudes. “Whitehead” caused by the rice leaf nematode *A. besseyi*, also called aphelenchoidosis, has been known for over 100 years, and was first detected in Japan in 1915 (Kharchenko and Ruban, 2015). The rice leaf nematode is spread in many countries cultivating rice (Fig. 1) (Shestiperov, Savitikov, 1995; Brown et al., 1993).

In some years, nematode damage takes on the character of epiphytotic, causing a significant deterioration in grain quality. In Krasnodar Krai, the rice leaf nematode was first reported in 1939. Later, the manifestation of the disease was noted in Rostov Oblast and

крае рисовая листовая нематода впервые была обнаружена в 1939 г. Позже проявление болезни отмечалось в Ростовской и Астраханской областях, Ставропольском крае, Дагестане, на Дальнем Востоке, а также в Узбекистане, Республике Молдове, на Украине и в ряде других стран. Несмотря на принимаемые меры борьбы с фитонематодами, проблема уменьшения причиняемого ими вреда продолжает оставаться серьезной (Буторина и др., 2006).

Нематода поражает большой круг растений, является полифагом. Основными растениями-хозяевами, которые подвергаются наибольшему риску заражения нематодой *A. besseyi*, являются рис и клубника (Sánchez-Monge et al., 2007). Нематода вызывает характерное побеление кончиков верхних листьев риса, которые впоследствии становятся некротическими, а также поражает метелку, что приводит к потере урожая. На землянике (клубнике) можно наблюдать карликовость и сморщивание листьев (Desaeger, Noling, 2017). По данным ЕОКЗР, *A. besseyi* не встречается севернее 43° с. ш. на рисе и 40° с. ш. на клубнике. Однако, согласно отечественной литературе, в нашей стране вредитель на рисе достигал 48° с. ш. (Шестиперов, Савитиков, 1995).

О серьезных потерях, связанных с *A. besseyi* в Японии и части США, сообщали с начала XX века (особенно с 1935 по 1945 г.). Но с появлением устойчивых сортов риса и других мер борьбы вредоносность нематоды уменьшилась.

Рисовая нематода представляет опасность для семенного и посадочного материала: семян риса для посева, растений земляники (клубники), клубней, луковиц, корневищ. Рисовая нематода регулируется в ряде стран, которые экспортируют российскую зерновую продукцию (Вредные организмы, имеющие карантинное значение для Европы, 1996). В случае если рисовая нематода выявляется в поставляемой продукции, в соответствии с международным и национальными фитосанитарными законодательствами могут быть приняты соответствующие фитосанитарные меры (например, осуществлен возврат, уничтожение, обработки или введение временных ограничений на ввоз зерновой продукции из России), которые приведут к существенным экономическим издержкам.

Вредоносность нематоды проявляется в начале роста и развития растений. У сильно зараженных семян риса снижается энергия прорастания и всхожести. Поражение точек роста губительно для растений, так как часто приводит к их усыханию и гибели. Выпад растений в очагах афеленхоидоза достигает 20–35%. У пораженных растений уменьшается число колосков, увеличивается процент неоплодотворенных цветков, щуплых зерен (Кириянова, Кралль, 1971).

Верхние концы пораженных листьев (3–5 см), лишенные хлорофильных зерен, в фазу выметывания белеют, поэтому заболевание первоначально получило название «белое пламя», «белая вершинка», или беловершинность риса (рис. 2) (Кириянова, Кралль, 1971).

Astrakhan Oblast, Stavropol Krai, Dagestan, the Far East, as well as in Uzbekistan, the Republic of Moldova, Ukraine and a number of other countries. Despite the measures taken to control plant nematodes, the problem of reducing the harm they cause is still serious (Butorina et al., 2006).

The nematode infects a wide range of plants, so it is a polyphage. The main hosts most at risk for *A. besseyi* infestation are rice and strawberries (Sánchez-Monge et al., 2007). The nematode causes a characteristic whitening of the tips of the rice upper leaves, which subsequently become necrotic, and also infects the panicle, resulting in yield loss. On wild strawberries (strawberries), stunt and wrinkling of leaves can be observed (Desaeger, Noling, 2017). According to EPPO, *A. besseyi* does not occur north of 43° N on rice and 40° N on strawberries. However, according to literature, in Russia, the pest on rice reached 48° N (Shestiperov, Savitikov, 1995).

Serious losses associated with *A. besseyi* in Japan and parts of the United States have been reported since the beginning of the 20th century (especially from 1935 to 1945). But with the advent of resistant varieties of rice and other control measures, the harmfulness of the nematode has decreased.

The rice leaf nematode is dangerous for seed and planting material: rice seeds for sowing, wild strawberry (strawberry) plants, tubers, bulbs, rhizomes. The rice leaf nematode is regulated in a number of countries that export Russian grain products (Pests of Quarantine Importance for Europe, 1996). If the rice nematode is detected in the supplied products, in accordance with international and national phytosanitary laws, appropriate phytosanitary measures can be taken (for example, return, destruction, processing or the introduction of temporary restrictions on the import of grain products from Russia) that will lead to significant economic costs.

The harmfulness of the nematode manifests itself at the beginning of the growth and development of plants. In severely infected rice seeds, the vigor germination is reduced. Damage to growth points is detrimental to plants, as it often leads to their drying out

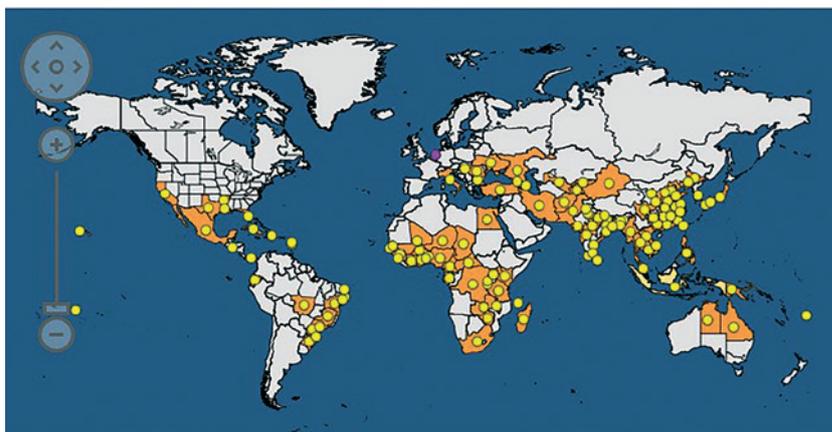


Рис. 1. Распространение рисовой нематоды *Aphelenchoides besseyi* в мире (<https://gd.eppo.int/taxon/APLOBE>)

Fig. 1. *Aphelenchoides besseyi* around the world (<https://gd.eppo.int/taxon/APLOBE>)



Рис. 2. Внешние симптомы поражения растений риса нематодой *Aphelenchoides besseyi* (фото А.В. Иванова)

Fig. 2. External symptoms of damage to rice plants by nematode *Aphelenchoides besseyi* (photo by A.V. Ivanov)

Зараженные растения риса не всегда могут проявлять какие-либо симптомы. Даже если обесцвечивание появляется на всходах восприимчивых сортов в стадии первых 2–3 листьев, как правило, первые хорошо заметные симптомы появляются в конце стадии кущения. На этой стадии поврежденные листья укороченные, заметно скрученные в верхушечной части, гофрированные, с белесыми верхушками. Метелка часто развивается лишь частично или не развивается вообще, ее размер уменьшается, как и число зерен. На более поздней стадии колошения наблюдается пустоколосица (Зиновьева, Чижов, 2012). Крошащиеся чешуйки становятся белыми, зерновка сморщенная, щуплая или совсем отсутствует. Сильно пораженные метелки не понижают, так как содержат до 90% пустых и щуплых зерен. Характерной особенностью заражения является появление от основания стебля (из нижних узлов) дополнительных мелких метелок. На сильно пораженных растениях наблюдается срастание флага в виде трубки с перемычкой над отрастающей метелкой – «закукливание метелки». Такие растения хорошо заметны в посевах (Харченко, Рубан, 2015).

Симптомы поражения нематодой проявляются также в виде мозаичности, скручивания в спираль и деформации. Афеленхоидоз развивается в течение всего периода вегетации риса и поражает все надземные органы (Sivakumar, 1987). Проявление болезни зависит от сорта риса, погодных условий, агротехники, численности патогена (Giudici, Callegarin, 2005).

Для лабораторного исследования с целью выявления рисовой листовой нематоды применяются как морфологические, так и молекулярные методы. Постоянное совершенствование молекулярных методов требует новых подходов к разработке диагностических протоколов по выявлению и идентификации. Представляется актуальной разработка и применение современных методов в области карантина растений для выявления и идентификации вредителя риса – рисовой листовой нематоды *Aphelenchoides besseyi*.

Для диагностики нематод рода *Aphelenchoides* используются те же молекулярные методы, что и для большинства других видов нематод, включая ПЦР-ПДРФ, ПЦР с видоспецифичными

and death. The loss of plants in the outbreaks of aphelelenchoidosis reaches 20–35%. In affected plants, the number of spikelets decreases, the percentage of unfertilized flowers, feeble grains increases (Kiryanova, Krall, 1971).

The upper ends of the affected leaves (3–5 cm), devoid of chlorophyll grains, turn white during the heading phase, so the disease was originally called “white flame”, “white tip”, or rice white tip (Fig. 2) (Kiryanova, Krall, 1971).

Infected rice plants may not always show any symptoms. Even if discoloration appears on the seedlings of susceptible varieties in the first 2–3 leaf stage, as a rule, the first clearly visible symptoms appear at the end of the tillering stage. At this stage, damaged leaves are shortened, noticeably twisted at the apex, corrugated, with whitish tips. The panicle often develops only partially or does not develop at all, its size decreases, as does the number of grains. At a later stage of heading, an empty ear is observed (Zinovieva and Chizhov, 2012). The covering scales become white, the caryopsis is shriveled, puny or completely absent. Severely affected panicles do not droop, as they contain up to 90% of empty and feeble grains. A characteristic feature of the infection is the appearance of additional small panicles from the base of the stem (from the lower nodes). On severely affected plants, the fusion of the flag in the form of a tube with a bridge over the growing panicle is observed – “panicle pupation”. Such plants are clearly visible in crops (Kharchenko, Ruban, 2015).

Symptoms of nematode damage also appear in the form of mosaic, twisting into a spiral and deformation. Aphelenchoidosis develops during the entire vegetation period of rice and affects all aboveground organs (Sivakumar, 1987). The manifestation of the disease depends on the rice variety, weather conditions, agricultural technology, and the pathogen number (Giudici, Callegarin, 2005).

For laboratory research in order to identify the rice leaf nematode, both morphological and molecular methods are used. Continuous improvement of

праймерами, ПЦР в реальном времени, а также методы частичного секвенирования ДНК (Clemen et al., 2019; Buonicontro et al., 2017; Zhang et al., 2022).

Исследователи из Бразилии используют ПЦР в реальном времени (Buonicontro et al., 2017). В Бразилии *Aphelenchoides besseyi* и *A. fujianensis* часто встречаются в смешанных популяциях, связанных с семенами кормовых трав. Морфологическое сходство между двумя видами ранее приводило к тому, что *A. fujianensis* ошибочно определяли как *A. besseyi*. Для обнаружения каждого вида были разработаны 2 метода ПЦР в режиме реального времени. Американские исследователи используют для диагностики 3 различных локуса: 18S (SSU); фрагменты экспансии D2-D3 гена 28S рРНК и COI; для последующего секвенирования (Clemen et al., 2019).

Целью нашего исследования являлось испытание и оптимизация классической ПЦР с доступными отечественными коммерческими наборами для эффективной идентификации рисовой листовой нематоды *A. besseyi*, в том числе с использованием специфичных праймеров. В настоящее время у российских компаний имеется широкий спектр реагентов для выделения ДНК и амплификации. В частности, ООО «Синтол» (Россия) предлагает набор для выделения нуклеиновых кислот из тканей животных «ДНК-Экстран-2». Базовые комплекты для проведения амплификации, содержащие все необходимые компоненты, за исключением видоспецифичных олигонуклеотидов, производят российские ООО «Синтол», ЗАО «Евроген», ООО «Агро-Диагностика», ЗАО «Диалат Лтд.» и другие компании (<https://www.syntol.ru>, <http://evrogen.ru>, <https://agrodiagnostica.ru/>, <http://dialat.ru/>).

Задачи исследования – оптимизировать тесты на основе классической ПЦР со специфичными праймерами и сравнить эффективность готовых реакционных смесей, предлагаемых российскими компаниями.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При проведении исследований использовали рисовых листовых нематод *A. besseyi*, собранных во время экспедиций на Дальний Восток (Приморский край, Ханкайский район) и в Краснодарский край Российской Федерации. Нематоды идентифицированы согласно методическим рекомендациям по выявлению и идентификации рисовой нематоды *Aphelenchoides besseyi* Christie (МР ВНИИКР № 89-2016).

Морфологическое исследование перед выделением ДНК

Перед выделением ДНК провели идентификацию используемых для исследования нематод морфологическим методом. Фотографии исследуемых особей нематод представлены на рисунке 3.

Выделенных нематод переносили в каплю воды на предметное стекло и накрывали покровным стеклом. Микропрепарат нагревали на нагревательном столике до прекращения движения нематод. Затем особей рисовой листовой нематоды просматривали под микроскопом, измеряли диагностические таксономические признаки и проводили идентификацию по морфологическим признакам.

Морфометрические параметры исследуемых нематод соответствовали виду *Aphelenchoides besseyi*.

molecular methods requires new approaches to the development of diagnostic protocols for detection and identification. It seems relevant to develop and apply modern methods in the field of plant protection for the detection and identification of rice pest – rice leaf nematode *Aphelenchoides besseyi*.

Diagnosis of *Aphelenchoides* nematodes uses the same molecular methods as for most other nematode species, including PCR-RFLP, PCR with species-specific primers, real-time PCR, and partial DNA sequencing methods (Clemen et al., 2019; Buonicontro et al., 2017; Zhang et al., 2022).

Brazilian researchers use real-time PCR (Buonicontro et al., 2017). *Aphelenchoides besseyi* and *A. fujianensis* are often detected in mixed forage seed-associated populations in Brazil. Morphological similarities between the two species have previously led *A. fujianensis* to be erroneously identified as *A. besseyi*. To detect each species, 2 real-time PCR methods were developed. American researchers use 3 different loci for diagnosis: 18S (SSU); fragments of the D2-D3 expansion segments of 28S rRNA gene and COI; for subsequent sequencing (Clemen et al., 2019).

The aim of our study was to test and optimize classical PCR with available Russian commercial kits for the effective identification of the rice leaf nematode *A. besseyi*, including the use of specific primers. Currently, Russian companies have a wide range of reagents for DNA extraction and amplification. In particular, Syntol (Russia) offers a DNA-Extran-2 kit for the isolation of nucleic acids from animal tissues. Basic kits for amplification, containing all the necessary components, with the exception of species-specific oligonucleotides, are produced by Russian Syntol, Evrogen, AgroDiagnostica, Dialat Ltd. and other companies (<https://www.syntol.ru>, <http://evrogen.ru>, <https://agrodiagnostica.ru/>, <http://dialat.ru/>).

The objectives of the study are to optimize tests based on classical PCR with specific primers and compare the effectiveness of ready-made reaction mixtures offered by Russian companies.

MATERIALS AND METHODS

When conducting research, we used rice leaf nematodes *A. besseyi* collected during expeditions to the Far East (Primorsky Krai, Khankaisky District) and Краснодар Krai of the Russian Federation. Nematodes were identified in accordance with the guidelines for the detection and identification of the rice leaf nematode *Aphelenchoides besseyi* Christie (MR VNIKR № 89-2016).

Morphological study before DNA extraction

Before DNA isolation, the nematodes used for the study were identified by the morphological method. Photos of the studied individuals of nematodes are shown in Figure 3.

The isolated nematodes were transferred to a drop of water on a glass slide and covered with a coverslip. The slide was heated on a hot plate until the movement of nematodes ceased. Then, individuals of the rice leaf

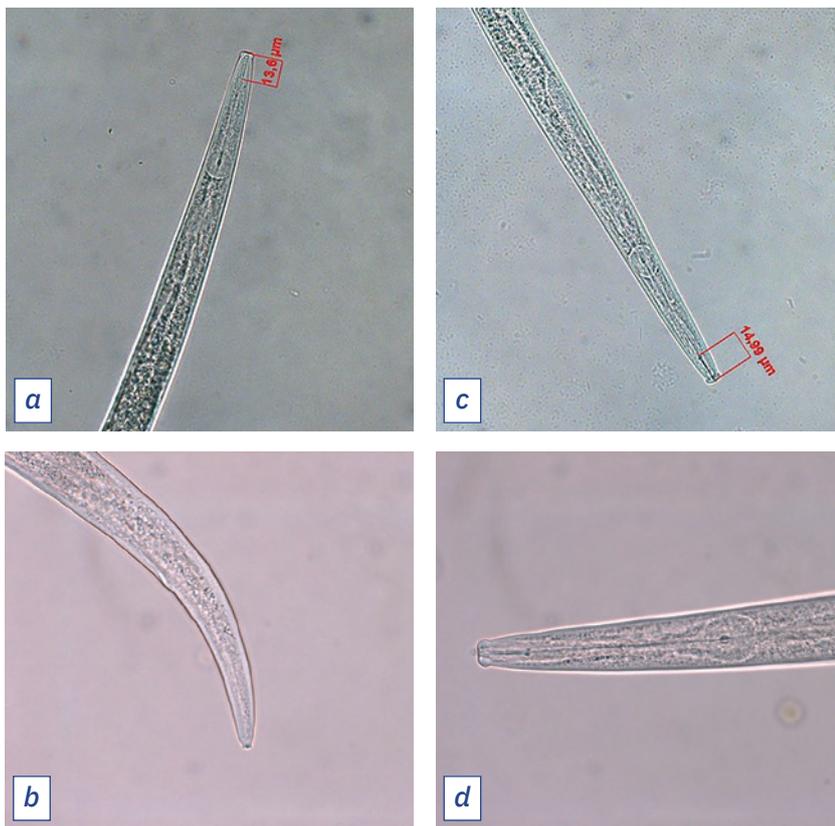


Рис. 3. Образцы, отобранные для исследований (фото А.В. Иванова) Fig. 3. Samples selected for study (photo by A.V. Ivanov)

Для подтверждения результатов морфологического анализа были применены методы молекулярной диагностики.

Молекулярно-генетическое исследование и применяемые коммерческие наборы для выделения ДНК

Для корректной работы диагностического набора необходимо проводить оптимизацию ПЦР-теста. В лаборатории гельминтологии ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР» было проведено исследование на основе ПЦР с использованием коммерческих смесей.

Основные комплекты для проведения амплификации, содержащие все необходимые компоненты, предлагают компании «Диалат Лтд.» и «Евроген»:

- 5x Mas^{DP}Taq MIX-2025 ЗАО «Диалат Лтд.» (содержит 2 инертных красителя (стабильных при хранении и не ингибирующих амплификацию), основой смеси является термостабильная hot-start полимеразы SmarTaq, позволяющая амплифицировать низкокопийные ДНК-матрицы, сложные последовательности ДНК, может применяться в мультиплексной ПЦР);

- 5x Mas^{OR}Taq MIX-2025 ЗАО «Диалат Лтд.» (содержит инертный краситель (стабильный при хранении и не ингибирующий амплификацию), стабилизатор/энхансер, усиливающий термостабилизацию фермента при повышенных температурах, улучшая специфичность и чувствительность ПЦР);

- 5x ScreenMix ЗАО «Евроген» (окрашенная реакционная смесь предназначена для проведения ПЦР-анализа большого количества образцов с последующим анализом на гель-электрофорезе);

nematode were examined under a microscope, diagnostic taxonomic characters were measured and identified by morphological characteristics.

The morphometric parameters of the studied nematodes corresponded to the species *Aphelenchoides besseyi*. To confirm the results of morphological analysis, methods of molecular diagnosis were applied.

Molecular genetic testing and applicable commercial kits for DNA extraction

For the correct operation of the diagnostic kit, it is necessary to optimize the PCR test. In Helminthology Laboratory of Testing Laboratory Center at FGBU “VNIKCR”, a study was conducted based on PCR using commercial mixtures.

Basic kits for amplification, containing all the necessary components, are offered by Dialat Ltd. and Evrogen:

- 5x Mas^{DP}Taq MIX-2025 Dialat Ltd. (contains 2 inert dyes (stable during storage and not inhibiting amplification), the basis of the mixture is the thermostable hot-start polymerase SmarTaq, which allows amplification of low-copy DNA templates, complex

DNA sequences, can be used in multiplex PCR);

- 5x Mas^{OR}Taq MIX-2025 Dialat Ltd. (contains an inert dye (stable during storage and does not inhibit amplification), a stabilizer/enhancer that enhances the thermal stabilization of the enzyme at elevated temperatures, improving the specificity and sensitivity of PCR);

- 5x ScreenMix Evrogen (colored reaction mixture is designed for PCR analysis of a large number of samples with subsequent analysis on gel electrophoresis);

- 5x ScreenMix-HS Evrogen (colored reaction mixture is designed for highly specific PCR amplification of a large number of DNA samples);

- 5x ScreenMix-HS (UDG) Evrogen (colored reaction mixture is intended for routine PCR and amplification of a large number of DNA samples, the presence of UDG (uracil-DNA glycosylase) and dUTP in the optimal concentration in the mixture provides protection against contamination by PCR products containing uracil).

Classical PCR conditions and primer sequences were taken from published articles (Valcheva et al., 2017; Rybarczyk-Mydlowska et al., 2012).

Sample preparation and nematode DNA isolation

DNA isolation using the DNA-Extran-2 commercial kit (Syntol) was carried out according to the manufacturer’s instructions. The samples were homogenized with a pestle in a 1.5 ml microtube in a 300 μl lyse solution.

- 5x ScreenMix-HS ЗАО «Евроген» (окрашенная реакционная смесь предназначена для проведения высокоспецифичной ПЦР-амплификации большого количества образцов ДНК);

- 5x ScreenMix-HS (UDG) ЗАО «Евроген» (окрашенная реакционная смесь предназначена для проведения рутинной ПЦР и амплификации большого количества образцов ДНК, наличие в составе смеси UDG (урацил-ДНК-гликозилазы) и dUTP в оптимальной концентрации обеспечивает защиту от контаминации ПЦР-продуктами, содержащими урацил).

Условия проведения классической ПЦР и последовательности праймеров были взяты из опубликованных статей (Valcheva et al., 2017; Rybarczyk-Mydlowska et al., 2012).

Подготовка проб и выделение ДНК нематод

Выделение ДНК коммерческим набором «ДНК-Экстран-2» (ООО «Синтол») проводили согласно инструкции производителя. Образцы гомогенизировали пестиком в микропробирке объемом 1,5 мл в лизирующем растворе объемом 300 мкл.

Метод классической ПЦР

Идентификацию методом ПЦР проводили с использованием пары специфичных праймеров, амплифицирующих фрагменты 325 пар нуклеотидов (Rybarczyk-Mydlowska et al., 2012):

1770 (forward) 5'-GCGGGATTTCGTGGTTC-3';

1772 (reverse) 5'-CGACATGCCGAAACATGAG-3'.

При проведении полимеразной цепной реакции использовали рабочую концентрацию праймеров, равную 10 пикомоль/мкл. Амплификацию проводили в амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США). Режим амплификации приведен в таблице.

Для проведения тестов использовали готовые реакционные смеси компаний ЗАО «Евроген» и ЗАО «Диалат Лтд.» (окрашенные смеси для постановки амплификации с последующим внесением продуктов в гель).

Состав рабочей смеси в ходе исследования был оптимизирован: испытываемая реакционная смесь – 5 мкл, 1770 (forward) – 1 мкл, 1772 (reverse) – 1 мкл, H₂O – 16 мкл, образец ДНК (исследуемый образец) – 2 мкл. Всего 25 мкл.

Испытания проводили на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США). Для тестирования было использовано 5 образцов ДНК рисовой нематоды *Aphelenchoides besseyi*, выделенных набором «ДНК-Экстран-2» в трех повторностях.

Анализ фрагментов ДНК проводили с помощью электрофореза в 1,5 %-м агарозном геле.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение готовых реакционных смесей

Результаты тестирования реакционных смесей для классической ПЦР представлены на электрофореграммах (рис. 4–8).

Оценка результатов апробации реакционных смесей для ПЦР показала, что для выявления и идентификации рисовой листовой нематоды *A. besseyi* подходят все коммерческие смеси, использованные в работе. Смесь 5x ScreenMix ЗАО «Евроген» с экономической точки зрения более выгодна для использования в диагностике большого количества образцов. Для дальнейшей работы выбрана эта смесь.

Таблица
Режим амплификации
для праймеров 1770/1772

Table
Amplification mode
for primers 1770/1772

Условия* Conditions*	T, °C	t, мин t, min	Количество циклов The number of cycles
Первичная денатурация Primary denaturation	94	3:00	1
Денатурация Denaturation	94	0:30	40
Отжиг Annealing	63	0:30	
Элонгация Elongation	72	1:00	
Финальная элонгация Final elongation	72	5:00	1

* T, °C – температура в градусах Цельсия;
t, мин – время в минутах.

* T, °C – temperature in Celsius degrees;
t, min – time in minutes.

Classical PCR method

Identification by PCR was carried out using a pair of specific primers that amplify fragments of 325 bp (Rybarczyk-Mydlowska et al., 2012):

1770 (forward) 5'-GCGGGATTTCGTGGTTC-3';

1772 (reverse) 5'-CGACATGCCGAAACATGAG-3'.

When carrying out the polymerase chain reaction, a working primer concentration of 10 pmol/μl was used. Amplification was carried out in a CFX96 amplifier (Bio-Rad, USA). The amplification mode is shown in the table.

Ready-made reaction mixtures of Evrogen and Dialat Ltd. were used for the tests (colored mixtures for amplification with subsequent introduction of products into the gel).

The composition of the working mixture during the study was optimized: test reaction mixture – 5 μl, 1770 (forward) – 1 μl, 1772 (reverse) – 1 μl, H₂O – 16 μl, DNA sample (test sample) – 2 μl. Total 25 μl.

The tests were carried out on a CFX96 amplifier (Bio-Rad, USA). For testing, 5 DNA samples of the rice leaf nematode *Aphelenchoides besseyi* were used, isolated with the DNA-Extran-2 kit in triplicate.

DNA fragments were analyzed by electrophoresis in 1.5% agarose gel.

RESULTS AND DISCUSSION

Comparison of finished reaction mixtures

The results of testing reaction mixtures for classical PCR are presented on electrophoregrams (Fig. 4–8).

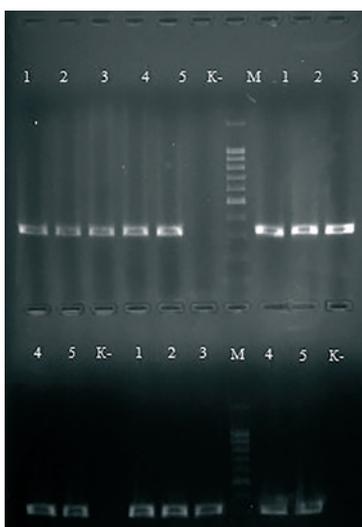


Рис. 4. Электрофореграмма с праймерами 1770/1772 и реакционной смесью 5x Mas^{OD}Taq MIX-2025 ЗАО «Диалат Лтд.» (Россия) Где: с 1-го по 5-й образец – *Aphelenchoides besseyi* (в трех повторностях, образцы 1–3 из Приморского края, 4–5 – из Краснодарского края), К- – отрицательный контрольный образец, М – маркер молекулярного веса 100–1500 п. о.

Fig. 4. Electropherogram with primers 1770/1772 and reaction mixture 5x Mas^{OD}Taq MIX-2025 Dialat Ltd. (Russia) Where: from the 1st to the 5th sample – *Aphelenchoides besseyi* (in triplicate, samples 1–3 from Primorsky Krai, 4–5 from Krasnodar Krai), K- – negative control sample, M – molecular weight marker 100–1500 bp.

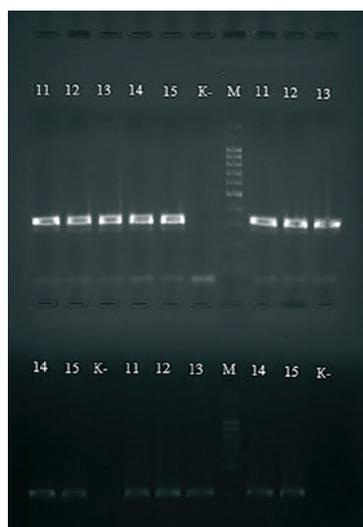


Рис. 5. Электрофореграмма с праймерами 1770/1772 и реакционной смесью 5x Mas^{OR}Taq MIX-2025 ЗАО «Диалат Лтд.» (Россия) Где: с 11-го по 15-й образец – *Aphelenchoides besseyi* (в трех повторностях, образцы 11–13 из Приморского края, 14–15 – из Краснодарского края), К- – отрицательный контрольный образец, М – маркер молекулярного веса 100–1500 п. о.

Fig. 5. Electropherogram with primers 1770/1772 and reaction mixture 5x Mas^{OR}Taq MIX-2025 Dialat Ltd. (Russia) Where: from the 11th to the 15th sample – *Aphelenchoides besseyi* (in triplicate, samples 11–13 from Primorsky Krai, 14–15 from Krasnodar Krai), K- – negative control sample, M – molecular weight marker 100–1500 bp.



Рис. 6. Электрофореграмма с праймерами 1770/1772 и реакционной смесью 5x ScreenMix ЗАО «Евроген» (Россия) Где: с 21-го по 25-й образец – *Aphelenchoides besseyi* (в трех повторностях, образцы 21–23 из Приморского края, 24–25 – из Краснодарского края), К- – отрицательный контрольный образец, М – маркер молекулярного веса 100–1500 п. о.

Fig. 6. Electropherogram with primers 1770/1772 and reaction mixture 5x ScreenMix Evrogen (Russia) Where: from the 21st to the 25th sample – *Aphelenchoides besseyi* (in triplicate, samples 21–23 from Primorsky Krai, 24–25 from Krasnodar Krai), K- – negative control sample, M – molecular weight marker 100–1500 bp.

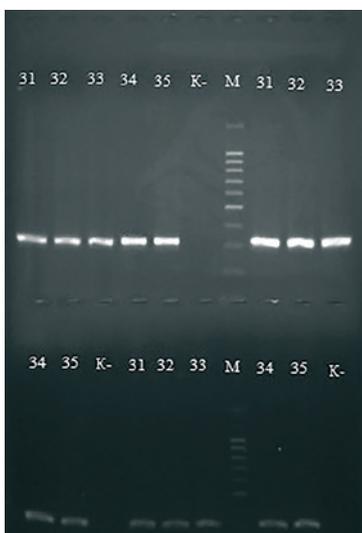


Рис. 7. Электрофореграмма с праймерами 1770/1772 и реакционной смесью 5x ScreenMix-HS ЗАО «Евроген» (Россия) Где: с 31-го по 35-й образец – *Aphelenchoides besseyi* (в трех повторностях, образцы 31–33 из Приморского края, 34–35 – из Краснодарского края), К- – отрицательный контрольный образец, М – маркер молекулярного веса 100–1500 п. о.

Fig. 7. Electropherogram with primers 1770/1772 and reaction mixture 5x ScreenMix-HS Evrogen (Russia) Where: from the 31st to the 35th sample – *Aphelenchoides besseyi* (in triplicate, samples 31–33 from Primorsky Krai, 34–35 from Krasnodar Krai), K- – negative control sample, M – molecular weight marker 100–1500 bp.



Рис. 8. Электрофореграмма с праймерами 1770/1772 и реакционной смесью 5x ScreenMix-HS (UDG) ЗАО «Евроген» (Россия) Где: с 41-го по 45-й образец – *Aphelenchoides besseyi* (в трех повторностях, образцы 41–43 из Приморского края, 44–45 – из Краснодарского края), К- – отрицательный контрольный образец, М – маркер молекулярного веса 100–1500 п. о.

Fig. 8. Electropherogram with primers 1770/1772 and reaction mixture 5x ScreenMix-HS (UDG) Evrogen (Russia) Where: from the 41st to the 45th sample – *Aphelenchoides besseyi* (in triplicate, samples 41–43 from Primorsky Krai, 44–45 from Krasnodar Krai), K- – negative control sample, M – molecular weight marker 100–1500 bp.

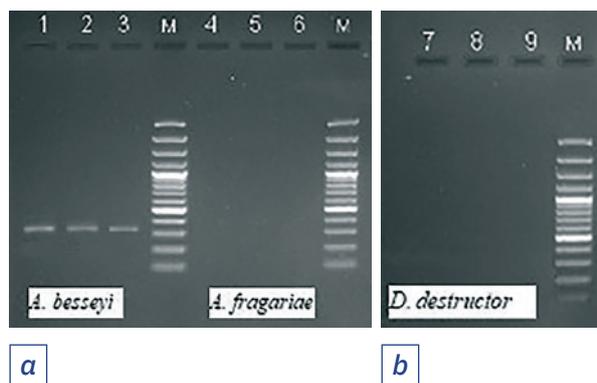


Рис. 9. Электрофореграмма классической ПЦР с праймерами 1770/1772
 Где: с 1-го по 3-й образец – *Aphelenchoides besseyi*, с 4-го по 6-й образец – *Aphelenchoides fragariae*, с 7-го по 9-й образец – *Ditylenchus destructor*, М – маркер молекулярного веса 100–1500 п. о.

Fig. 9. Electrophoregram of classical PCR with primers 1770/1772
 Where: from the 1st to the 3rd sample – *Aphelenchoides besseyi*, from the 4th to the 6th sample – *Aphelenchoides fragariae*, from the 7th to the 9th sample – *Ditylenchus destructor*, M – molecular weight marker 100–1500 bp.

Для подтверждения специфичности праймеров 1770/1772 были использованы нецелевые организмы: близкий вид земляничная нематода *Aphelenchoides fragariae* и стеблевая нематода картофеля *Ditylenchus destructor* (рис. 9). Апробированный метод ПЦР со специфичными праймерами подходит для диагностики и дифференциации видов. При анализе электрофореграммы установлено, что специфичные праймеры 1770/1772 пригодны для использования при идентификации рисовой нематоды *A. besseyi*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучен и апробирован метод молекулярно-генетической идентификации рисовой листовой нематоды *Aphelenchoides besseyi*, используемый в зарубежных исследованиях. Апробирован метод ПЦР со специфичными праймерами 1770/1772 для идентификации *A. besseyi*. Данная тест-система подходит для идентификации нематод, полученных из разных регионов Российской Федерации. Тестирование пары праймеров 1770/1772 с нецелевыми видами нематод показало их специфичность к целевому объекту *A. besseyi*. Праймеры могут использоваться для диагностики рисовой листовой нематоды *A. besseyi*. Проведено исследование ПЦР с использованием коммерческих смесей для амплификации 5x Mas^{DP}Taq MIX-2025 и 5x Mas^{OR}Taq MIX-2025 ЗАО «Диалат Лтд.», а также 5x ScreenMix, 5x ScreenMix-HS и 5x ScreenMix-HS (UDG) ЗАО «Евроген». Все готовые реакционные смеси могут использоваться для проведения ПЦР, но 5x ScreenMix ЗАО «Евроген» с экономической точки зрения более выгодна для использования в диагностике большого количества образцов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Буторина Н., Зиновьева С., Кулинич О. и др. Прикладная нематология. – М.: Наука, 2006, 350 с.
2. Вредные организмы, имеющие карантинное значение для Европы. – М.: Колос, 1996, с. 316–319.
3. Деккер Х. Нематоды растений и борьба с ними. – М.: Колос, 1972, 444 с.

Evaluation of the approbation results of reaction mixtures for PCR showed that all commercial mixtures used in the work are suitable for detection and identification of the rice leaf nematode *A. besseyi*. From an economic point of view, the mixture 5x ScreenMix of Evrogen is more profitable for use in the diagnosis of a large number of samples. This mixture was chosen for further work.

To confirm the specificity of primers 1770/1772, non-target organisms were used: a closely related species, strawberry nematode *Aphelenchoides fragariae* and potato stem nematode *Ditylenchus destructor* (Fig. 9). The proven PCR method with specific primers is suitable for diagnosis and species differentiation. When analyzing the electrophoregram, it was found that specific primers 1770/1772 are suitable for use in the identification of the rice leaf nematode *A. besseyi*.

CONCLUSION

The method of molecular genetic identification of the rice leaf nematode *Aphelenchoides besseyi*, used in international research papers, has been studied and tested. The PCR method with specific primers 1770/1772 was tested for the identification of *A. besseyi*. This test system is suitable for identifying nematodes obtained from different regions of the Russian Federation. Testing of primer pair 1770/1772 with non-target nematode species showed their specificity for the target *A. besseyi*. The primers can be used to diagnose the rice leaf nematode *A. besseyi*. PCR study performed using commercial amplification mixtures 5x Mas^{DP}Taq MIX-2025 and 5x Mas^{OR}Taq MIX-2025 Dialat Ltd., as well as 5x ScreenMix, 5x ScreenMix-HS and 5x ScreenMix-HS (UDG) Evrogen. All ready-made reaction mixtures can be used for PCR, but 5x ScreenMix by Evrogen is more economical from an economic point of view for use in the diagnosis of a large number of samples.

REFERENCES

1. Butorina N., Zinovieva S., Kulinich O. et al. Applied nematology [Prikladnaya nematologiya]. M.: Nauka, 2006, 350 p.
2. Pests of quarantine importance for Europe [Vrednyye organizmy, imeyushchiye karantinnoye znachenije dlya Yevropy]. M.: Kolos, 1996, p. 316–319 (in Russian).
3. Dekker H. Plant nematodes and their control [Nematody rasteniy i borba s nimi]. M.: Kolos, 1972, 444 p. (in Russian).
4. Kiryanova E., Krall E. Plant parasitic nematodes and their control measures [Paraziticheskiye nematody rasteniy i mery borby s nimi]. L.: Nauka, 1971; Vol. 2, 522 p. (in Russian).
5. Kostylev P. Weeds, diseases and pests of rice agrocenoses in the south of Russia [Sornyye rasteniya, bolezni i vrediteli risovykh agrotsenozov yuga Rossii]. M.: Pechatnyy gorod, 2011, 368 p. (in Russian).
6. Popova M. Effect of chitosan and thiabendazole on rice productivity and infection with rice leaf nematode [Vliyaniye khitozana i tiabendazola na produktivnost' risa i zarazhennost' risovoy

4. Кирьянова Е., Кралль Э. Паразитические нематоды растений и меры борьбы с ними. – Л.: Наука, 1971, Т. 2, 522 с.
5. Костылев П. Сорные растения, болезни и вредители рисовых агроценозов юга России. – М.: Печатный город, 2011, 368 с.
6. Попова М., 2001. Влияние хитозана и тиабендазола на продуктивность риса и зараженность рисовой листовой нематодой. – Труды Всероссийского ин-та гельминтологии им. К. И. Скрыбина, Т. 37: 116–123.
7. Попова М., 2004. Методические рекомендации: Афеленхоидоз риса и эпифитотиологические основы борьбы с ним. – Труды Всероссийского ин-та гельминтологии им. К.И. Скрыбина, Т. 40: 461–497.
8. Фитопаразитические нематоды России. Под ред. С. Зиновьевой, В. Чижова. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012, с. 159–161.
9. Харченко Е., Рубан М., 2015. Афеленхоидоз риса и меры борьбы с ним. – Рисоводство, № 1–2 (26–27): 28–32.
10. Шестиперов А., Савотиков Ю. Карантинные фитогельминтозы. Кн. 1. – М.: Колос, 1995, 463 с.
11. PM 7/39 (1) *Aphelenchoides besseyi*, 2004. – Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 34: 155–157.
12. Brown D., Dalmasso A., Trudgill D., 1993. Nematode pests of soft fruits and vines. – *Plant parasitic nematodes in temperate agriculture*, 427–462; 138 ref.
13. Oliveira C.J., Subbotin S., Álvarez-Ortega S., Desaegeer J., Brito J.A., K.V. Xavier, L.G. Freitas, S. Vau, Inserra R.N., 2019. Morphological and Molecular Identification of Two Florida Populations of Foliar Nematodes (*Aphelenchoides* spp.) Isolated From Strawberry With the Description of *Aphelenchoides pseudogoodeyi* sp. n. (Nematoda: Aphelenchoididae) and Notes on Their Bionomics. – *Plant Disease*, 103 (11): 2825–2842. URL: <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-19-0752-RE>.
14. Buonicontro D., Roberts D., Oliveira C., Blok V., Neilson R., D'arc De Lima Oliveira R., 2017. A Rapid Diagnostic for Detection of *Aphelenchoides besseyi* and *A. fujianensis* Based on Real-Time PCR. – *Plant Disease*. URL: <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1160-RE>.
15. Desaegeer J., Noling J., 2017. Foliar or Bud Nematodes in Florida Strawberries. – University of Florida, IFAS Extension Publication ENY-068.
16. Giudici M., Callegarin A. Pest risk analysis. Ente Nazionale Risi – Rice Research Centre – Italy. January 2005. Ente Nazionale Risi – Rice Research Centre – Italy. 04/10795 P PM Point 6.2.3.
17. Rybarczyk-Mydłowska K., Mooyman P., van Megen H., van den Elsen S., Vervoort M., Veenhuizen P., van Doorn J., Dees R., Karssen G., Bakker J., Helder J., 2012. Small subunit ribosomal DNA-based phylogenetic analysis of foliar nematodes (*Aphelenchoides* spp.) and their quantitative detection in complex DNA backgrounds. – *Phytopathology*, 102 (12): 1153–1160. URL: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-12-0114-R>.
18. Sánchez-Monge A., Flores L., Salazar L., Hockland S., Bert W., 2015. An updated list of the plants associated with plant-parasitic *Aphelenchoides* (Nematoda: Aphelenchoididae) and its implications for plant-parasitism within this genus. – *Zootaxa*, 4013 (2): 207–224.
19. Sivakumar C., 1987. Post-embryonic development of *Aphelenchoides besseyi* in vitro and its longevity in stored rice seeds. – *Indian Journal of Nematology*, 17 (1): 147–148; 1 ref.
- listovoy nematodoy]. Proceedings of the K. I. Scribina All-Russian Institute of Helminthology, 2001; 37: 116–123 (in Russian).
7. Popova M. Guidelines: Aphelenchoidosis of rice and epiphytological bases of its control [Metodicheskiye rekomendatsii: Afelenkhoidoz risa i epifitotologicheskiye osnovy borby s nim]. Proceedings of the K.I. Scribin All-Russian Institute of Helminthology, 2004; 40: 461–497 (in Russian).
8. Phytoparasitic nematodes of Russia [Fitoparaziticheskiye nematody Rossii]. Ed. S. Zinovieva, V. Chizhov. M.: Association of Scientific Publications KMK, 2012; 159–161 (in Russian).
9. Kharchenko E., Ruban M. Rice aphelenchoidosis and ways of its control [Afelenkhoidoz risa i mery borby s nim]. *Rice growing*, 2015; 1–2 (26–27): 28–32 (in Russian).
10. Shestiperov A., Savotikov Yu. Quarantine phytohelminthiasis [Karantinnyye fitogel'mintozy]. Book 1. M.: Kolos, 1995; 463 p. (in Russian).
11. PM 7/39 (1) *Aphelenchoides besseyi*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 2004; 34: 155–157.
12. Brown D., Dalmasso A., Trudgill D. Nematode pests of soft fruits and vines. *Plant parasitic nematodes in temperate agriculture*, 1993: 427–462; 138 ref.
13. Oliveira C.J., Subbotin S., Álvarez-Ortega S., Desaegeer J., Brito J.A., K.V. Xavier, L.G. Freitas, S. Vau, Inserra R.N. Morphological and Molecular Identification of Two Florida Populations of Foliar Nematodes (*Aphelenchoides* spp.) Isolated From Strawberry With the Description of *Aphelenchoides pseudogoodeyi* sp. n. (Nematoda: Aphelenchoididae) and Notes on Their Bionomics. *Plant Disease*, 2019; 103 (11): 2825–2842. URL: <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-19-0752-RE>.
14. Buonicontro D., Roberts D., Oliveira C., Blok V., Neilson R., D'arc De Lima Oliveira R. A Rapid Diagnostic for Detection of *Aphelenchoides besseyi* and *A. fujianensis* Based on Real-Time PCR. *Plant Disease*, 2017. URL: <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1160-RE>.
15. Desaegeer J., Noling J., 2017. Foliar or Bud Nematodes in Florida Strawberries. University of Florida, IFAS Extension Publication ENY-068.
16. Giudici M., Callegarin A. Pest risk analysis. Ente Nazionale Risi – Rice Research Centre – Italy. January 2005. Ente Nazionale Risi – Rice Research Centre – Italy. 04/10795 P PM Point 6.2.3.
17. Rybarczyk-Mydłowska K., Mooyman P., van Megen H., van den Elsen S., Vervoort M., Veenhuizen P., van Doorn J., Dees R., Karssen G., Bakker J., Helder J. Small subunit ribosomal DNA-based phylogenetic analysis of foliar nematodes (*Aphelenchoides* spp.) and their quantitative detection in complex DNA backgrounds. *Phytopathology*, 2012; 102 (12): 1153–1160. URL: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-12-0114-R>.
18. Sánchez-Monge A., Flores L., Salazar L., Hockland S., Bert W. An updated list of the plants associated with plant-parasitic *Aphelenchoides* (Nematoda: Aphelenchoididae) and its implications for plant-parasitism within this genus. *Zootaxa*, 2015; 4013 (2): 207–224.
19. Sivakumar C. Post-embryonic development of *Aphelenchoides besseyi* in vitro and its longevity in stored

20. Valcheva S., Samaliev H., Kostova M. Distribution and Molecular Identification of Rice White Tip Nematode *Aphelenchoides besseyi* in Rice Growing Areas in Bulgaria. ISSN 1314-6246, 2017.

21. Zhang A., Bin S., Zhang J., Cheng C., Zhou J., Fuan N., Luo Z., Yu L., Yu C., Dai Y., Xie K., Hu Qi., Qiu Y., Cao L., Chu H. 2022. CRISPR/Cas12a Coupled With Recombinase Polymerase Amplification For Sensitive And Specific Detection Of *Aphelenchoides besseyi*. – *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10: 912959. URL: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.912959>.

22. Глобальная база данных ЕОКЗР [Электронный ресурс]. URL: <https://gd.eppo.int/taxon/APLOBE> (дата обращения: 11.08.2022).

23. Федеральная таможенная служба [Электронный ресурс]. – URL: <http://stat.customs.gov.ru/analysis> (дата обращения: 13.08.2022).

24. Научно-производственная компания «Синтол» [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.syntol.ru> (дата обращения: 11.05.2022).

25. Российская биотехнологическая компания «Евроген» [Электронный ресурс]. – URL: <http://evrogen.ru> (дата обращения: 11.05.2022).

26. ООО «АгроДиагностика». Разработка систем диагностики и детекции инфекционных заболеваний сельскохозяйственной продукции [Электронный ресурс]. – URL: <https://agrodiagnostica.ru/> (дата обращения: 11.05.2022).

27. Компания «Диалат Лтд.» [Электронный ресурс]. – URL: <http://dialat.ru/> (дата обращения: 11.05.2022).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Иванов Антон Владиславович, младший научный сотрудник лаборатории гельминтологии ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; *e-mail: tonijons8@mail.ru*.

Ушкова Мария Владиславовна, младший научный сотрудник лаборатории энтомологии ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; *e-mail: ushkovamariavladislavovna@gmail.com*.

rice seeds. *Indian Journal of Nematology*, 1987; 17 (1): 147–148; 1 ref.

20. Valcheva S., Samaliev H., Kostova M. Distribution and Molecular Identification of Rice White Tip Nematode *Aphelenchoides besseyi* in Rice Growing Areas in Bulgaria. ISSN 1314-6246, 2017.

21. Zhang A., Bin S., Zhang J., Cheng C., Zhou J., Fuan N., Luo Z., Yu L., Yu C., Dai Y., Xie K., Hu Qi., Qiu Y., Cao L., Chu H. CRISPR/Cas12a Coupled With Recombinase Polymerase Amplification For Sensitive And Specific Detection Of *Aphelenchoides besseyi*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022; 10: 912959. URL: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.912959>.

22. EPPO Global Database [Electronic resource]. URL: <https://gd.eppo.int/taxon/APLOBE> (last accessed: 11.08.2022).

23. Federal Customs Service [Electronic resource]. URL: <http://stat.customs.gov.ru/analysis> (last accessed: 13.08.2022).

24. Scientific and production company Syntol [Electronic resource]. URL: <https://www.syntol.ru> (last accessed: 11.05.2022).

25. Russian biotechnology company Evrogen [Electronic resource]. URL: <http://evrogen.ru> (last accessed: 11.05.2022).

26. AgroDiagnostica. Development of diagnostic and detection systems for infectious diseases of agricultural products [Electronic resource]. URL: <https://agrodiagnostica.ru/> (last accessed: 11.05.2022).

27. Dialat Ltd. [Electronic resource]. URL: <http://dialat.ru/> (last accessed: 11.05.2022).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Anton Ivanov, Junior Researcher, Helminthology Laboratory of Testing Laboratory Center, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: tonijons8@mail.ru*.

Maria Ushkova, Junior Researcher, Entomology Laboratory of Testing Laboratory Center, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: ushkovamariavladislavovna@gmail.com*.

Испытания различных вариантов препаративной формы синтетического феромона зимней пяденицы *Operophtera brumata* (L.)

Н.Г. ТОДОРОВ¹, В.М. РАСТЕГАЕВА²,
А.Э. НЕСТЕРЕНКОВА³, В.Л. ПОНОМАРЕВ⁴

ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия

¹ ORCID 0000-0002-8990-3411, e-mail: todor-kol@mail.ru

² e-mail: vrast@mail.ru

³ e-mail: anastasiiae@mail.ru

⁴ e-mail: vladimir_l_ponomarev@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Зимняя пяденица *Operophtera brumata* (Linnaeus, 1758) – опасный вредитель лесных насаждений и плодовых деревьев, распространенный в северо-западной части Российской Федерации, в Молдавии, Сибири, Средней Азии, на Кавказе. Для борьбы с пяденицей используют химические, механические и биологические методы борьбы, важной составляющей которых является своевременное выявление и мониторинг численности данного вредителя. Незаменимым инструментом для этого служат феромонные ловушки, в которых используются диспенсеры с половым феромоном зимней пяденицы – (Z, Z, Z)-1,3,6,9-нонадекатетраеном, синтезированным в отделе синтеза феромонов ФГБУ «ВНИИКР» по разработанной методике. Действующее вещество, феромон, наносили на диспенсеры в смеси со стабилизаторами – витамином E и ионолом.

В данной работе представлены результаты полевых испытаний различных вариантов клеевых феромонных ловушек с синтетическим феромоном в двух разных дозировках – 0,5 мг (смесь I) и 2,0 мг (смесь II) – на 1 диспенсер. Показано, что смесь II была эффективнее смеси I лишь в количественном отношении, но не по продолжительности аттрактивного действия, которая оказалась одинаковой для обоих вариантов. Таким образом, при использовании феромонных ловушек 4-кратное увеличение дозировки синтетического феромона не может считаться обязательным. Установлено, что ромбовидная ловушка обеспечивает более эффективный отлов вредителя за счет большей закрытости конструкции по сравнению с ловушкой «Квадро», а также с дельтовидной ловушкой в различных ее модификациях. Доказано преимущество энтомологического клея при использовании в качестве растворителя минеральных масел (клей «Полификс») по сравнению с клеем на водно-минеральной основе (клей «Унифлекс»).

Testing of various options for the formulation of synthetic pheromone of *Operophtera brumata* (L.)

N.G. TODOROV¹, V.M. RASTEGAEVA²,
A.E. NESTERENKOVA³, V.L. PONOMAREV⁴

FGBU “All-Russian Plant Quarantine Center” (FGBU “VNI IKR”), Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia

¹ ORCID 0000-0002-8990-3411, e-mail: todor-kol@mail.ru

² e-mail: vrast@mail.ru

³ e-mail: anastasiiae@mail.ru

⁴ e-mail: vladimir_l_ponomarev@mail.ru

ABSTRACT

Common winter moth *Operophtera brumata* (Linnaeus, 1758) is a dangerous pest of forest plantations and fruit trees, common in the northwestern part of the Russian Federation, in Moldova, Siberia, Central Asia, and the Caucasus. To control the moth, chemical, mechanical and biological methods are used, an important component of which is the timely identification and monitoring of the number of this pest. An indispensable tool for this is pheromone traps, which use dispensers with the sex moth pheromone (Z, Z, Z)-1,3,6,9-nona-decetetraene, synthesized in the pheromone synthesis department of FGBU “VNI IKR” according to the developed method. The active substance, pheromone, was applied to dispensers in a mixture with stabilizers – vitamin E and ionol.

This paper presents the results of field tests of various variants of glue pheromone traps with synthetic pheromone in two different dosages – 0.5 mg (mixture I) and 2.0 mg (mixture II) – per 1 dispenser. It was shown that mixture II was more effective than mixture I only in quantitative terms, but not in terms of the duration of the attractive action, which turned out to be the same for both options. Thus, when using pheromone traps, a 4-fold increase in the dosage of synthetic pheromone cannot be considered mandatory. It has been established that the rhomboid trap provides more effective pest trapping due to the greater closed structure in comparison with the Quadro trap, as well as with the deltoid trap in its various modifications. The advantage of entomological glue when used as a solvent for mineral oils (Polyfix glue) in comparison with water-mineral based glue (Uniflex glue) has been proved.

Разработанный феромонный препарат может быть использован при выявлении вредителя и мониторинге численности зимней пяденицы.

Ключевые слова. Феромонные ловушки, вредители леса, очаги, выявление, мониторинг.

ВВЕДЕНИЕ

Зимняя пяденица *Operophtera brumata* (Linnaeus, 1758) – широко известный в странах Европы и Азии вредитель лесных, лесодекоративных и плодовых деревьев и кустарников (рис. 1).

Список кормовых растений зимней пяденицы весьма обширен: к числу основных повреждаемых пород относятся различные плодовые, а также дуб, бук, граб, береза, липа, клен, ильмовые, лещина, черемуха и многие другие (Афонин и др., 2008; <http://ecosystema.ru>; <https://givoyles.ru>).

В результате ранневесеннего питания гусениц вредителя в первую очередь страдают почки и молодые побеги, что отрицательно сказывается на урожае плодов и семян, а при многолетнем массовом поражении возможна полная гибель насаждения (Волков и др., 1955; <http://ecosystema.ru>; <http://wiki.rcfh.ru>).

В лесных массивах очаги зимней пяденицы чаще всего бывают приурочены к злаковым и осоковым дубравам и пойменным лесам среднего возраста, реже спелым, в особенности при наличии в них зарослей дикорастущих плодовых деревьев. В антропогенных условиях они встречаются в парках, запущенных плодовых садах. Часто образуют комплексные очаги с другими видами вредителей – с листовертками, совками и волнянками.

Считается, что массовому размножению пяденицы способствуют годы с умеренно влажной и продолжительной осенью, без длительных морозных периодов и с нежарким влажным летом, однако в целом причины и динамика вспышек изучены достаточно слабо и прогнозировать их весьма сложно (<http://wiki.rcfh.ru>; <https://givoyles.ru>).

Трудности обнаружения данного вредителя при проведении лесопатологического обследования связаны преимущественно с отсутствием четких и доступных признаков (симптомов). Обследование обычно базируется на выявлении в начале июня гусениц в кронах деревьев, однако скрученные паутиной листья не являются видоспецифичным признаком, а обладающие ярко выраженной покровительственной окраской гусеницы очень часто остаются незамеченными (Корчагин, 1971). Детальное обследование проводят по куколкам в конце августа – начале сентября, но выявить их в подстилке и почве затруднительно по причине небольшого размера коконов, маскируемых под комочки грунта (<https://givoyles.ru>). Более продуктивным считается применение инсектицидных или клеевых поясов, позволяющих контролировать поднимающихся осенью по стволам в крону бескрылых

The developed pheromone preparation can be used to identify the pest and monitor the abundance of the common winter moth.

Key words. Pheromone traps, forest pests, outbreaks, detection, monitoring.

INTRODUCTION

O*perophtera brumata* (Linnaeus, 1758) – widely known pest in Europe and Asia of forest, ornamental and fruit trees and shrubs (Fig. 1).

The list of host plants of the common winter moth is very extensive: the main damaged species include various fruit trees, as well as oak, beech, hornbeam, birch, linden, maple, elm, hazel, bird cherry and many others (Afonin et al., 2008; <http://ecosystema.ru>; <https://givoyles.ru>).

As a result of the early spring nutrition of the pest caterpillars, the buds and young shoots are primarily affected, which negatively affects the yield of fruits and seeds, and with many years of mass damage, the complete death of the plantation is possible (Volkov et al., 1955; <http://ecosystema.ru>; <http://wiki.rcfh.ru>).

In forest areas, common winter moth outbreaks are most often associated with cereal and sedge oak forests and middle-aged floodplain forests, less often mature ones, especially if they contain thickets of wild fruit trees. Under anthropogenic conditions, they are detected in parks, neglected orchards. Often, they form complex outbreaks with other pest species – with leaf worms, noctuids and tussock moths.



Рис. 1. Имаго самца зимней пяденицы (фото с сайта Российского центра защиты леса: <https://wiki.rcfh.ru>)

Fig. 1. Imago of a male common winter moth (photo from the website of the Russian Center for Forest Protection: <https://wiki.rcfh.ru>)

самок, однако этот вариант также нельзя считать достаточно точным в связи с высокой активностью различных животных-энтомофагов (<http://wiki.rcfh.ru>; <https://givoyles.ru>). Таким образом, в сложившейся ситуации дополнительным, менее трудоемким и имеющим больший охват территории способом мониторинга численности популяции зимней пяденицы могло бы стать применение феромонных ловушек (<http://wiki.rcfh.ru>).

Половой феромон зимней пяденицы был идентифицирован как (Z, Z, Z)-1,3,6,9-нонадекатетраен (Roelofs et al., 1982; Bestmann et al., 1982) (рис. 2).

Опыты по разработке препаративной формы синтетического полового феромона зимней пяденицы были проведены на базе ФГБУ «ВНИИКР» в 2019–2020 гг. Задачей первого этапа работы (2019 г.) была оценка аттрактивности различных дозировок полового феромона зимней пяденицы в диспенсерах. В задачу второго этапа работы (2020 г.) входили сравнительные испытания эффективности различных вариантов феромонной клейевой ловушки в зависимости от конструкции ловушки и типа применяемого в ней энтомологического клея.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выполнения полевых опытов использовался половой феромон зимней пяденицы – (Z, Z, Z)-1,3,6,9-нонадекатетраен, синтезированный в отделе синтеза феромонов ФГБУ «ВНИИКР» по оригинальной методике. Действующее вещество наносили на диспенсеры в смеси со стабилизаторами – витамином Е и ионолом.

В качестве диспенсеров на протяжении всего эксперимента были использованы синие медицинские пробки высотой 9 мм и диаметром 12 мм из бромбутильного каучука производства КНР (содержание материала: вода – 0,8%, зольный остаток – 47%, аммоний – 0,0002%, цинк – 0,0003%) с нанесенным на них синтетическим феромоном в количестве 0,5 мг (вариант I) и 2,0 мг (вариант II) соответственно на 1 диспенсер (рис. 3).

На первом этапе работы в обоих вариантах опыта были использованы клейевые ловушки типа «Ромб» (ромбовидные ловушки). На втором этапе работы были применены ловушки типа «Ромб», типа «Квадро» и типа «Дельта» (рис. 4–6), параллельно в дельтовидных ловушках были проверены клеи разных составов от нескольких производителей.

Ловушка типа «Дельта», или дельтовидная ловушка (рис. 4), – универсальная и наиболее часто применяемая конструкция для отлова чешуекрылых с помощью половых феромонов (ТУ 72.11.13-033-04731278-2015). Корпус изготовлен из плотного ламинированного картона, который складывается в треугольно-призматическую ловушку, основание которой составляет 12,9 см, боковые стороны – 12,4 см, длина – 18,6 см. На дно помещается лист картона размером 18 x 12 см с нанесенным энтомологическим клеем (клеевой вкладыш). Общая площадь клейевой поверхности – 216 см². В опытах второго этапа на вкладыши нанесли 2 варианта клея – «Полификс» (ТУ 2387-002-55841212-2002, «Химтэк», г. Уфа) и «Унифлекс» (ТУ 5262-001-68159309-2013, Республика Беларусь). Был испытан также усовершенствованный вариант

It is believed that the mass reproduction of the moth is facilitated by years with a moderately wet and long autumn, without long frosty periods and with a cool, humid summer, however, in general, the causes and dynamics of outbreaks are poorly studied and it is very difficult to predict them (<http://wiki.rcfh.ru>; <https://givoyles.ru>).

Difficulties in detecting this pest during a forest pathological examination are mainly associated with the absence of clear and accessible signs (symptoms). The survey is usually based on the detection of caterpillars in the crowns of trees in early June, however, leaves twisted with cobwebs are not a species-specific feature, and caterpillars with a pronounced protective coloration very often go unnoticed (Korchagin, 1971). A detailed examination is carried out on pupae in late August – early September, but it is difficult to identify them in the litter and soil due to the small size of cocoons disguised as lumps of soil (<https://givoyles.ru>). It is considered more productive to use insecticidal or glue belts, which make it possible to control wingless females ascending the trunks in the fall into the crown, however, this option also cannot be considered sufficiently accurate due to the high activity of various entomophagous animals (<http://wiki.rcfh.ru>; <https://givoyles.ru>). Thus, in the current situation, the use of pheromone traps could be an additional, less labor-intensive and more area-covering method for monitoring the abundance of the common winter moth population (<http://wiki.rcfh.ru>).

The sex pheromone of the common winter moth was identified as (Z, Z, Z)-1,3,6,9-nonadecatetraene (Roelofs et al., 1982; Bestmann et al., 1982) (Fig. 2).

Experiments on the development of a preparative form of a synthetic sex pheromone of the common winter moth were carried out on the basis of



Рис. 2. Химическая структура (Z, Z, Z)-1,3,6,9-нонадекатетраена

Fig. 2. Chemical structure of (Z, Z, Z)-1,3,6,9-nonadecatetraene



Рис. 3. Внешний вид диспенсеров с синтетическим половым феромоном зимней пяденицы (фото авторов)

Fig. 3. Dispensers with synthetic sex pheromone of the common winter moth (photo by the authors)



Рис. 4. Внешний вид дельтовидной клеевой ловушки (фото авторов) Fig. 4. Deltoid glue trap (photo by the authors)



Рис. 5. Внешний вид ромбовидной клеевой ловушки (фото авторов) Fig. 5. Diamond-shaped glue trap (photo by the authors)

дельтовидной ловушки («Дельта-Н», ТУ 72.11.13-128-04731278-2020), который предусматривает отсутствие вкладышей и нанесение энтомологического клея по всей площади внутренней поверхности ловушки (648 см²).

Ловушки типа «Ромб» и типа «Квадро» являются модификациями дельтовидной ловушки.

Ловушка типа «Ромб» (рис. 5) (ТУ 72.11.13-080-04731278-2018) по внешнему виду представляет собой две спаянные узкими концами пластины из ламинированного с двух сторон картона размером 20 x 16 см, которые разворачиваются в фигуру, напоминающую объемный ромб с двумя верхними гранями размером 10 на 16 см и двумя нижними гранями размером 9 на 16 см. С внутренней стороны ловушки нанесен энтомологический клей для фиксации привлеченных феромоном насекомых. Общая площадь клеевой поверхности – 420 см². В верхнем ребре конструкции имеются 2 отверстия диаметром 0,5 см для подвешивания ловушки с помощью входящей в комплект проволоки.

FGBU “VNIKR” in 2019–2020. The task of the first stage of work (2019) was to evaluate the attractiveness of various dosages of the common winter moth sex pheromone in dispensers. The task of the second stage of work (2020) included comparative tests of the effectiveness of various versions of the pheromone glue trap, depending on the design of the trap and the type of entomological glue used in it.

MATERIALS AND METHODS

To perform field experiments, we used the sex pheromone of common winter moth – (Z, Z, Z)-1,3,6,9-nonadecatetraene, synthesized in the pheromone synthesis department of FGBU “VNIKR” according to the original method. The active substance was applied to dispensers in a mixture with stabilizers – vitamin E and ionol.

As dispensers throughout the experiment, blue medical plugs 9 mm high and 12 mm in diameter made of bromobutyl rubber manufactured in China were used (material content: water – 0.8%, ash residue – 47%, ammonium – 0.0002%, zinc – 0.0003%) with synthetic pheromone applied to them in the amount of 0.5 mg (option I) and 2.0 mg (option II), respectively, per 1 dispenser (Fig. 3).

At the first stage of work, in both variants of the experiment, glue traps of the Rhombus type (diamond-shaped traps) were used. At the second stage of the work, traps of the Rhombus type, Quadro type and Delta type were used (Fig. 4–6), in parallel, adhesives of different compositions from several manufacturers were tested in deltoid traps.

The Delta type trap, or deltoid trap (Fig. 4), is a universal and most commonly used design for trapping Lepidoptera using sex pheromones (ТУ 72.11.13-033-04731278-2015). The case is made of thick laminated cardboard, which is folded into a triangular-prismatic trap, the base of which is 12.9 cm, the sides are 12.4 cm, and the length is 18.6 cm. A sheet of cardboard measuring 18 x 12 cm with applied entomological glue (adhesive insert). The total area of the adhesive surface is 216 cm². In the experiments of the second stage, 2 types of glue were applied to the liners – Polyfix (ТУ 2387-002-55841212-2002, Khimtek, Ufa) and Uniflex (ТУ 5262-001-68159309-2013, Republic of Belarus). An improved version of the deltoid trap was also tested (Delta-N, ТУ 72.11.13-128-04731278-2020), which provides for the absence of liners and the application of entomological glue over the entire area of the inner surface of the trap (648 см²).

Ловушка типа «Квадро» (рис. 6) (ТУ 72.11.13-127-04731278-2020), в свою очередь, является вариантом ромбовидной ловушки с упрощенной системой фиксации формы и с увеличенной площадью клеевой поверхности: грани ловушки имеют внешние размеры 44,5 на 24,0 см, общая площадь клеевой поверхности – 912 см², а верхняя и нижняя половины ловушки, в отличие от «Ромба», имеют одинаковый объем. На внутреннюю поверхность ловушек «Ромб» и «Квадро» наносили клей уфимского производства «Полификс». Все ловушки подвешивали на ветви деревьев с помощью проволоки, скрепляющей корпус ловушки. Ловушки вывешивали в конце сентября на территории ФГБУ «ВНИИКР» (Московская обл., Раменский р-н, р. п. Быково) в лесном массиве, состоящем из сосен, елей, осин и берез, возраста около 50 лет, на ветвях лиственных деревьев, чередуя положение ловушек разных вариантов случайным образом.

Статистическую обработку данных проводили методом однофакторного дисперсионного анализа, реализованного в ПО MS Excel 2016 г. Различия оценивали по t-критерию Стьюдента и считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как в 2019 г., так и в 2020 г. погодные условия были благоприятны для массового лёта самцов зимней пяденицы. В 2019 г. лёт начался в первых числах октября и практически полностью завершился к концу месяца, а в 2020 г. начался в конце первой декады октября и продолжался до первой декады ноября. Результаты проведенных экспериментов представлены в таблицах 1 и 2.

Как видно по данным таблицы 1, на синтетическую феромонную смесь II, содержащую 2 мг действующего вещества (ловушки II-1 – II-10), было поймано в 2 раза больше самцов целевого вида, чем на смесь I, содержащую 0,5 мг синтетического феромона (ловушки I-1 – I-10). Различия были

Traps of the Rhombus type and the Quadro type are modifications of the deltoid trap.

The Rhombus type trap (Fig. 5) (ТУ 72.11.13-080-04731278-2018) in appearance consists of two plates of cardboard laminated on both sides, soldered with narrow ends, 20 x 16 cm in size, which unfold into a figure resembling a three-dimensional rhombus with two upper faces measuring 10 by 16 cm and two lower faces measuring 9 by 16 cm. Entomological glue was applied on the inside of the trap to fix the insects attracted by the pheromone. The total area of the adhesive surface is 420 cm². There are two 0.5 cm diameter holes in the upper rib of the structure for hanging the trap using the wire included in the kit.

The trap of the Quadro type (Fig. 6) (ТУ 72.11.13-127-04731278-2020), in turn, is a variant of a diamond-shaped trap with a simplified system for fixing the shape and with an increased area of the adhesive surface: the edges of the trap have external dimensions of 44.5 by 24.0 cm, the total area of the adhesive surface is 912 cm², and the upper and lower halves of the trap, unlike the Rhombus, have the same volume. On the inner surface of the traps Rhombus and Quadro was applied glue produced in Ufa Polifix. All traps were hung on tree branches with a wire fastening the body of the trap. The traps were hung out at the end of September on the territory of FGBU «VNIICR» (Moscow Oblast, Ramenskoye, Bykovo) in a forest area consisting of pines, spruces, aspens and birches, about 50 years old, on the branches of deciduous trees, alternating the position of the traps of different options randomly.

Statistical data processing was carried out by the method of one-way analysis of variance implemented in MS Excel 2016 software. Differences were assessed by Student's t-test and considered statistically significant at $p < 0,05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Both in 2019 and 2020, the weather conditions were favorable for the mass flight of males of the winter moth.

In 2019, the flight began in early October and almost completely ended by the end of the month, and in 2020 it began at the end of the first ten days of October and continued until the first ten days of November. The results of the experiments are presented in tables 1 and 2.

As can be seen from Table 1, the synthetic pheromone mixture II containing 2 mg of the active substance (traps II-1 – II-10) caught 2 times more males of the target species than mixture I containing 0.5 mg of synthetic pheromone (traps I-1 – I-10). The differences were considered statistically significant ($F_{\text{fact}} = 8.04 > F_{\text{table}} = 4.41$; $df = 1$, $P\text{-value} = 0.01$). However, mixture II was more effective than mixture I only in quantitative terms, but not in terms of the duration of the attractive action, which turned out to be



Рис. 6. Внешний вид клеевой ловушки «Квадро» (фото авторов)

Fig. 6. Quadro glue trap (photo by the authors)

признаны статистически достоверными ($F_{\text{факт.}} = 8,04 > F_{\text{табл.}} = 4,41$; $df = 1$, $P\text{-значение} = 0,01$). Однако смесь II была эффективнее смеси I лишь в количественном отношении, но не по продолжительности аттрактивного действия, которая оказалась одной и той же для обоих вариантов. Таким образом, для выявления и мониторинга вредителя 4-кратное увеличение дозировки синтетического феромона не может считаться обязательным.

При обработке данных, полученных в ходе проведения опыта по изучению эффективности различных вариантов клеевых ловушек, рассчитывали не только среднее количество самцов, пойманных в ловушку данного типа, но и, с учетом достаточного разнообразия конструкций, среднее количество насекомых, пойманных на 1 см^2 клеевой поверхности (табл. 2).

При сравнении двух вариантов клея (табл. 2) более эффективным был признан «Полификс» российского производства (ловушки ДУ1–ДУ5). Уловы на вкладышах, содержащих клей «Унифлекс»,

the same for both variants. Thus, for pest detection and monitoring, a 4-fold increase in the dosage of synthetic pheromone cannot be considered mandatory.

When processing the data obtained during the experiment on the study of the effectiveness of various versions of glue traps, we calculated not only the average number of males caught in a trap of this type, but also, taking into account a sufficient variety of designs, the average number of insects caught per 1 cm^2 of glue surface (Table 2).

When comparing two variants of the adhesive (Table 2), Russian-made Polifix (traps DU1–DU5) was recognized as more effective. Catches on liners containing Uniflex glue produced in the Republic of Belarus (traps DB1–DB5) were on average 30% lower. We attribute this to the fact that the loss of water by Belarusian glue during operation probably causes its excessive thickening, which negatively affects the possibility of fixing target objects with a small body mass.

In a comparative analysis of different variants of glue traps (Table 2), the diamond-shaped trap

Таблица 1
Результаты отлова самцов зимней пяденицы на синтетический феромон в различных дозировках

Table 1
The results of capturing male common winter moths for synthetic pheromone in various dosages

№ ловушки Trap №							Итого	В среднем
	14.10.2019	18.10.2019	22.10.2019	26.10.2019	05.11.2019	11.11.2019	по ловушке, экз. Trap Total, ex.	на ловушку, экз. Trap average, ex.
I-1	14	4	4	2	0	0	24	22,2
I-2	14	24	9	7	0	2	56	
I-3	9	4	3	4	0	2	22	
I-4	8	2	1	1	0	0	12	
I-5	5	2	3	0	0	0	10	
I-6	10	4	0	3	0	0	17	
I-7	10	7	2	5	0	0	24	
I-8	1	3	1	2	0	0	7	
I-9	11	1	8	0	0	0	20	
I-10	23	5	2	0	0	0	30	
Сумма Total							222	
II-1	9	12	7	3	0	0	31	42,5
II-2	35	25	18	10	0	2	90	
II-3	9	13	6	3	0	0	31	
II-4	10	8	7	4	1	0	30	
II-5	24	14	5	8	0	0	51	
II-6	20	11	9	3	0	1	44	
II-7	12	7	11	4	0	0	34	
II-8	14	11	6	4	2	1	38	
II-9	16	8	8	3	2	0	37	
II-10	24	12	3	0	0	0	39	
Сумма Total							425	

Таблица 2

Результаты отлова самцов зимней пяденицы в различные варианты феромонных ловушек (Д1–Д5 – ловушки «Дельта», Р1–Р5 – ловушки «Ромб», К1–К5 – ловушки «Квадро», ДБ1–ДБ5 – ловушки «Дельта» с клеем «Унифлекс», Беларусь, ДУ1–ДУ5 – ловушки с клеем «Полификс», г. Уфа)

Table 2

The results of capturing male common winter moths in various pheromone traps (D1–D5 – Delta traps, P1–P5 – Rhombus traps, K1–K5 – Quadro traps, DB1–DB5 – Delta traps with Uniflex glue, Belarus, DU1–DU5 – traps with Polyfix glue, Ufa)

№ ловушки Trap №	Количество отловленных самцов по датам, экз. Number of captured males by date, ex.				Суммарно по ловушкам, экз. Total for traps ex.	В среднем на ловушку/см ² , экз. Average per trap/cm ² , ex.
	05.10.2020	17.10.2020	28.10.2020	12.11.2020		
Д1 D1	2	22	18	6	48	41,4/0,0639
Д2 D2	1	33	11	5	50	
Д3 D3	1	30	20	6	57	
Д4 D4	0	9	19	0	28	
Д5 D5	0	4	16	4	24	
Всего Total	4	98	84	21	207	
Р1	0	14	22	13	49	46,0/0,1095
Р2	0	31	27	0	58	
Р3	1	15	12	0	28	
Р4	0	30	7	13	50	
Р5	2	24	9	10	45	
Всего Total	3	114	77	36	230	
К1	0	14	18	4	36	31,0/0,0340
К2	0	14	10	5	29	
К3	0	15	12	7	34	
К4	0	6	6	1	13	
К5	2	21	20	0	43	
Всего Total	2	70	66	17	155	
ДБ1 DB1	1	5	4	0	10	9,8/0,0454
ДБ2 DB2	0	7	1	0	8	
ДБ3 DB3	1	4	3	0	8	
ДБ4 DB4	0	8	0	0	8	
ДБ5 DB5	0	12	3	0	15	
Всего Total	2	36	11	0	49	
ДУ1 DU1	0	7	6	0	13	15,2/0,0694
ДУ2 DU2	0	17	4	0	21	
ДУ3 DU3	0	12	4	2	18	
ДУ4 DU4	0	8	2	2	12	
ДУ5 DU5	0	7	4	1	12	
Всего Total	0	51	20	5	76	

выпускаемый в Республике Беларусь (ловушки ДБ1–ДБ5), были в среднем на 30% ниже. Мы связываем это с тем, что потеря белорусским клеем в ходе эксплуатации воды, вероятно, вызывает его чрезмерное загустение, что отрицательно сказывается на возможности фиксации целевых объектов с небольшой массой тела.

При сравнительном анализе различных вариантов клеевых ловушек (табл. 2) наиболее эффективной была признана конструкция ромбовидной ловушки (Р1–Р5), которая отличается наибольшей степенью закрытости, затрудняющей насекомым выход из ловушки и обеспечивающей тем самым

design (P1–P5) was recognized as the most effective, which is distinguished by the highest degree of closeness, which makes it difficult for insects to exit the trap and thus provides a greater probability of fixing an object on the adhesive layer (Fig. 7).

And, on the contrary, the most open of the traps – Quadro, having the largest adhesive surface, is characterized by an extremely low catchability (traps K1–K5).



Рис. 7. Самцы зимней пяденицы в ромбовидной ловушке (фото авторов)

Fig. 7. Male common winter moth in a diamond-shaped trap (photos by the authors)

большую вероятность фиксации объекта на клеевом слое (рис. 7).

И, напротив, наиболее открытая из ловушек – «Квадро», обладая наибольшей клеевой поверхностью, отличается крайне низкой уловистостью (ловушки К1–К5). Кроме того, обладая чрезмерно большой для своей конструкции площадью поверхности, ловушка «Квадро» в условиях высокой влажности очень плохо сохраняет свою форму (рис. 8).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты полевых испытаний феромонных ловушек отечественного производства с синтетическим феромоном зимней пяденицы показали их высокую биологическую активность по отношению к этому вредителю, что позволяет использовать данные феромонные ловушки для выявления и мониторинга численности такого опасного вредителя леса, как зимняя пяденица *Operophtera brumata*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волков С., Зимин Л., Руденко Д., Тупеневич С. Альбом вредителей и болезней сельскохозяйственных культур нечерноземной полосы европейской части СССР. – М.–Л.: Государственное издательство сельскохозяйственной литературы, 1955, 488 с.
2. Корчагин В. Вредители и болезни плодовых и ягодных культур. – М.: Колос, 1971, 160 с.
3. Bestmann H., Brosche T., Koschatzky K., Michaelis K., Platz H., Roth K. and Vostrowsky O., 1982. 1,3,6,9-Nonadecatetraen, das Sexualpheromon des



Рис. 8. Внешний вид ловушки «Квадро» в условиях влажной погоды (фото авторов)

Fig. 8. Quadro trap in wet weather (photo by the authors)

In addition, having an excessively large surface area for its design, the Quadro trap retains its shape very poorly under conditions of high humidity (Fig. 8).

CONCLUSION

The results of field tests of Russian pheromone traps with synthetic common winter moth pheromone showed their high biological activity against this pest, which makes it possible to use these pheromone traps to identify and monitor the abundance of such a dangerous forest pest as *Operophtera brumata*.

REFERENCES

1. Volkov S., Zimin L., Rudenko D., Tupenevich S. Album of pests and diseases of agricultural crops of the non-chernozem belt of the European part of the USSR [Albom vreditel'ey i bolezney selskokhozyaystvennykh kultur nechernozemnoy polosy yevropeyskoy chasti SSSR]. M.–L.: State publishing house of agricultural literature, 1955, 488 p. (in Russian).
2. Korchagin V. Pests and diseases of fruit and berry crops [Vrediteli i bolezni plodovykh i yagodnykh kultur]. M.: Kolos, 1971, 160 p. (in Russian).
3. Bestmann H., Brosche T., Koschatzky K., Michaelis K., Platz H., Roth K. and Vostrowsky O. 1,3,6,9-Nonadecatetraen, das Sexualpheromon des

Frostspanners *Operophtera brumata* (Geometridae). – *Tetrahedron Lett.*, 23: 4007–4010.

4. Roelofs W., Hill A., Linn C., Meinwald J., Jain S., Herbert H. and Smith R., 1982. Sex pheromone of the winter moth, a geometrid with unusually low temperature precopulatory responses. – *Science*, 217: 657–659.

5. Афонин А., Грин С., Дзюбенко Н., Фролов А. (ред.). Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их болезни, вредители и сорные растения [DVD-версия]. 2008 [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.agroatlas.ru> (дата обращения: 02.11.2022).

6. Интернет-журнал «Живой лес» [Электронный ресурс]. – URL: <https://givoyles.ru> (дата обращения: 15.09.2022).

7. Российский центр защиты леса [Электронный ресурс]. – URL: http://wiki.rcfh.ru/index.php/пяденица_зимняя (дата обращения: 02.11.2022).

8. Экологический центр «Экосистема» [Электронный ресурс]. – URL: <http://ecosystema.ru> (дата обращения: 15.09.2022).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Тодоров Николай Георгиевич, старший научный сотрудник – начальник отдела синтеза и применения феромонов ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; *ORCID 0000-0002-8990-3411*, *e-mail: todor-kol@mail.ru*.

Растегаева Валентина Михайловна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник, заведующая лабораторией синтеза феромонов ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; *e-mail: vrast@mail.ru*.

Нестеренкова Анастасия Эдуардовна, научный сотрудник отдела лесного карантина ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; *e-mail: anastasiiae@mail.ru*.

Пономарев Владимир Леонидович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией испытания и применения феромонов ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; *e-mail: vladimir_l_ponomarev@mail.ru*.

Frostspanners *Operophtera brumata* (Geometridae). *Tetrahedron Lett.*, 1982; 23: 4007–4010.

4. Roelofs W., Hill A., Linn C., Meinwald J., Jain S., Herbert H. and Smith R. Sex pheromone of the winter moth, a geometrid with unusually low temperature precopulatory responses. *Science*, 1982; 217: 657–659.

5. Afonin A., Green S., Dzyubenko N., Frolov A. (ed.). *Agroecological Atlas of Russia and neighboring countries: economically significant plants, their diseases, pests and weeds* [DVD version]. 2008 [Electronic resource]. URL: <http://www.agroatlas.ru> (last accessed: 02.11.2022).

6. Internet journal “Living Forest” [Electronic resource]. URL: <https://givoyles.ru> (last accessed: 15.09.2022).

7. Russian Center for Forest Protection [Electronic resource]. URL: http://wiki.rcfh.ru/index.php/пяденица_зимняя (last accessed: 02.11.2022).

8. Ecological center “Ecosystem” [Electronic resource]. URL: <http://ecosystema.ru> (last accessed: 15.09.2022).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nikolai Todorov, Senior Researcher, Head of the Department of Pheromones Synthesis and Application, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; *ORCID 0000-0002-8990-3411*, *e-mail: todor-kol@mail.ru*.

Valentina Rastegaeva, PhD in Chemistry, Senior Researcher, Head of the Laboratory of Pheromone Synthesis, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: vrast@mail.ru*.

Anastasia Nesterenkova, Researcher, Forest Quarantine Department, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: anastasiiae@mail.ru*.

Vladimir Ponomarev, PhD in Biology, Senior Researcher, Head of the Laboratory for Testing and Application of Pheromones, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: vladimir_l_ponomarev@mail.ru*.

Styx infernalis Staudinger, 1876 (Lepidoptera, Riodinidae) – уникальная бабочка из Перу

М.Г. КОВАЛЕНКО¹, Ю.А. ЛОВЦОВА²,
Я.Н. КОВАЛЕНКО³

ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия

¹ ORCID 0000-0001-7824-9277, e-mail: bush_zbs@mail.ru

² ORCID 0000-0002-7266-6229, e-mail: julialov@inbox.ru

³ ORCID 0000-0002-2572-9522,
e-mail: sinodendron.rus@gmail.com

АННОТАЦИЯ

Приводятся сведения о редкой и малоизученной бабочке *Styx infernalis* Staudinger, 1876 (Lepidoptera, Riodinidae), собранной сотрудниками ФГБУ «ВНИИКР» в ходе энтомологической экспедиции в Республику Перу. Рассматриваются сложности и противоречия в таксономическом положении данного вида, возникшие в процессе его изучения различными исследователями. *S. infernalis* имеет настолько необычный облик, что с момента своего описания побывал в разных семействах бабочек: Белянки (Pieridae), Голубянки (Lycaenidae), Риодинида (Riodinidae); более того, для него выделяли даже отдельное семейство Stygidae. Также освещаются данные о филогенетических связях, местах обитания и образе жизни *S. infernalis*. Примечательно, что *S. infernalis* филогенетически ближе к риодинидам Старого Света, чем Нового. В статье обсуждаются причины этого интересного явления. Находка *S. infernalis* сотрудниками ФГБУ «ВНИИКР» имеет несомненную ценность. Во-первых, стала известна еще одна географическая точка, где обитает этот редкий вид, во-вторых, подтвердились данные о его сумеречном образе жизни (бабочка была поймана в сумерках, хотя в литературе имеются сведения и о дневной активности данного вида). В качестве эксклюзивной находки этот уникальный экземпляр был депонирован в энтомологический фонд ФГБУ «ВНИИКР» и стал одним из ценнейших представителей коллекции бабочек. В статье также приводятся фотографии и точки сбора других риодиниид, пойманных в Перу сотрудниками ФГБУ «ВНИИКР».

Ключевые слова. Тропики, Riodinidae, *Styx*, *Hamearis*, *Amarynthis*, *Ancyluris*, *Baeotis*, эндемик, таксономия, филогения.

Styx infernalis Staudinger, 1876 (Lepidoptera, Riodinidae) – a unique butterfly from Peru

M.G. KOVALENKO¹, J.A. LOVTSOVA²,
YA.N. KOVALENKO³

FGBU "All-Russian Plant Quarantine Center" (FGBU "VNI IKR"), Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia

¹ ORCID 0000-0001-7824-9277, e-mail: bush_zbs@mail.ru

² ORCID 0000-0002-7266-6229, e-mail: julialov@inbox.ru

³ ORCID 0000-0002-2572-9522,
e-mail: sinodendron.rus@gmail.com

ABSTRACT

The present article provides data on a rare and little-studied butterfly *Styx infernalis* Staudinger, 1876 (Lepidoptera, Riodinidae), collected by FGBU "VNI IKR" specialists during an entomological expedition to the Republic of Peru. It considers difficulties and contradictions in the taxonomy of this species, arising when studied by various researchers. *S. infernalis* has such an unusual appearance that since its description it has been attributed to different butterfly families: Pieridae, Lycaenidae, Riodinidae; moreover, it was even referred to as a separate family called Stygidae. It also highlights data on phylogenetic relationships, habitats and lifestyle of *S. infernalis*. It is noteworthy that *S. infernalis* is phylogenetically closer to the Old World than the New World riodinids. The article discusses the reasons for this interesting phenomenon. The detection of *S. infernalis* by FGBU "VNI IKR" specialists is of undeniable value. Firstly, another geographical point where this rare species lives became known, and secondly, data on its twilight lifestyle were confirmed (the butterfly was caught at twilight, although there is information in the literature about the daytime activity of this species). As an exclusive detection, this unique specimen was deposited in the entomological fund of FGBU "VNI IKR" and became one of the most valuable representatives of the butterfly collection. The article also provides photographs and collection points of other riodinids caught in Peru by FGBU "VNI IKR" specialists.

Key words. Tropics, Riodinidae, *Styx*, *Hamearis*, *Amarynthis*, *Ancyluris*, *Baeotis*, endemic, taxonomy, phylogeny.

ВВЕДЕНИЕ

Риодиниды (Riodinidae) – семейство булавоусых чешуекрылых, являющееся сестринской группой голубянок (Lycaenidae) и насчитывающее порядка полутора тысяч видов, большинство из которых распространено в тропиках Старого и Нового Света, однако отдельные представители проникают и в умеренный пояс (Espeland et al., 2015). В апреле 2016 г. в результате энтомологической экспедиции ФГБУ «ВНИИКР» в Республику Перу был пойман уникальный представитель данного семейства – *Styx infernalis* Staudinger, 1876 (рис. 1). Этот единственный известный вид рода *Styx* Staudinger, 1876 встречается крайне редко (Brown, 1993), и любые сведения о его находках представляют собой ценность. Кроме того, *S. infernalis* имеет весьма сложную таксономическую историю, которая может представлять интерес как для энтомологов, так и для других исследователей.

Материал. В работе использовался следующий материал (данные этикеток приведены без изменений):

***Styx infernalis* Staudinger, 1876.** Peru, Junin region, Satipo prov., Pampa Hermosa distr., San Antonio vicinity, h 1400 m, S 11°25'13.8", W 74°46'02.5", 18.04.2016, Ya.N. Kovalenko, M.G. Kovalenko, J.A. Lovtsova leg. (энтомологический фонд ФГБУ «ВНИИКР»);

***Hamearis lucina* (Linnaeus, 1758).** Germania c. Jena Thür. 10.5.76. G. Goldbach (коллекция Зоологического музея МГУ);

***Baeotis bacaenis* Hewitson, 1874.** Peru, Junin region, Satipo prov., Pampa Hermosa distr., San Antonio vicinity, h 1400 m, S 11°25'13.8", W 74°46'02.5", 15.04.2016, Ya.N. Kovalenko, M.G. Kovalenko, J.A. Lovtsova leg. (энтомологический фонд ФГБУ «ВНИИКР»);

***Ancyluris meliboecus* (Fabricius, 1777).** Peru, Junin region, Satipo prov., Pampa Hermosa distr., San Antonio vicinity, h 1400 m, S 11°25'13.8", W 74°46'02.5", 18.04.2016, Ya.N. Kovalenko, M.G. Kovalenko, J.A. Lovtsova leg. (энтомологический фонд ФГБУ «ВНИИКР»);

***Amarynthia meneria* (Cramer, [1776]).** Peru, Junin region, Satipo prov., Pampa Hermosa distr., San Antonio vicinity, h 1400 m, S 11°25'13.8", W 74°46'02.5", 19.04.2016, Ya.N. Kovalenko, M.G. Kovalenko, J.A. Lovtsova leg. (энтомологический фонд ФГБУ «ВНИИКР»).

ОБЗОРНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

S. infernalis был описан немецким классиком лепидоптерологии Отто Штаудингером (Staudinger, 1876) из Чанчамайо (центральная часть Перу) по двум самцам и одной самке. В первоописании автор отметил высокое своеобразие этой темной прозрачной бабочки, упомянув, что один из его знакомых энтомологов даже посчитал ее разноусой (Heterocera). Тем не менее Штаудингер был уверен, что перед ним представитель белянок (Pieridae), и включил род *Styx* в данное семейство. «Кажется, что этот странный вид происходит из подземного мира, а не из пышной тропической растительности Перу, что и привело меня

INTRODUCTION

Riodinidae is a family of butterflies, that is a sister group of Lycaenidae, and containing 1,500 species, most of which are common in the tropics of the Old and New Worlds, however, some of them distribute into the temperate zone (Espeland et al., 2015). In April 2016, as a result of an entomological expedition of FGBU "VNIICR" to the Republic of Peru, a unique representative of this family was collected – *Styx infernalis* Staudinger, 1876 (Fig. 1). This is the only known species of the genus *Styx* Staudinger, 1876, it occurs quite rarely (Brown, 1993), and any information about its detections is valuable. Besides, *S. infernalis* has a very complex taxonomic history, which may be of interest to both entomologists and other researchers.

Material. The following material was used in the work (the data of the labels are given without changes):

***Styx infernalis* Staudinger, 1876.** Peru, Junin region, Satipo prov., Pampa Hermosa distr., San Antonio vicinity, h 1400 m, S 11°25'13.8", W 74°46'02.5", 18.04.2016, Ya.N. Kovalenko, M.G. Kovalenko, J.A. Lovtsova leg. (FGBU "VNIICR" Entomological Fund);

***Hamearis lucina* (Linnaeus, 1758).** Germania c. Jena Thür. 10.5.76. G. Goldbach (collection of the Zoological Museum of Moscow State University);

***Baeotis bacaenis* Hewitson, 1874.** Peru, Junin region, Satipo prov., Pampa Hermosa distr., San Antonio vicinity, h 1400 m, S 11°25'13.8", W 74°46'02.5", 15.04.2016, Ya.N. Kovalenko, M.G. Kovalenko, J.A. Lovtsova leg. (FGBU "VNIICR" Entomological Fund);

***Ancyluris meliboecus* (Fabricius, 1777).** Peru, Junin region, Satipo prov., Pampa Hermosa distr., San Antonio vicinity, h 1400 m, S 11°25'13.8", W 74°46'02.5", 18.04.2016, Ya.N. Kovalenko, M.G. Kovalenko, J.A. Lovtsova leg. (FGBU "VNIICR" Entomological Fund);

***Amarynthia meneria* (Cramer, [1776]).** Peru, Junin region, Satipo prov., Pampa Hermosa distr., San Antonio vicinity, h 1400 m, S 11°25'13.8", W 74°46'02.5", 19.04.2016, Ya.N. Kovalenko, M.G. Kovalenko, J.A. Lovtsova leg. (FGBU "VNIICR" Entomological Fund).



Рис. 1. *Styx infernalis* Staudinger, 1876. Перу, провинция Сатипо (энтомологический фонд ФГБУ «ВНИИКР») (фото Ю.А. Ловцовой)

Fig. 1. *Styx infernalis* Staudinger, 1876. Peru, Satipo Province (FGBU "VNIICR" Entomological Fund) (photo by J.A. Lovtsova)

к несколько странному названию», – писал Штаудингер в своем труде.

В работе другого классика лепидоптерологии – Адальберта Зайца (Seitz, 1924) – *S. infernalis* также фигурировал в составе белянок, однако обсуждалась неубедительность его настоящего таксономического положения. По мнению Зайца, внешним обликом и характером жилкования *S. infernalis* похож на белянок, но в то же время строение задних крыльев мало чем отличается от некоторых итомиид (Ithomiidae) (в настоящее время итомииды рассматриваются в ранге трибы подсемейства Danainae семейства Nymphalidae), а структура нижнегубных щупиков и ног показывает сильное сходство с Erycinidae (недействительное название семейства Riodinidae). Ранее (Jordan, 1909) было предложено отнести *S. infernalis* к Erycinidae на основании строения усиков, груди, ног, жилкования, а также яиц.

В 1958 г. П.Р. Эрлих (Ehrlich, 1958) включил род *Styx* в отдельное подсемейство Styginae, которое, наряду с Lycaeninae и Riodininae, он считал подсемейством голубянок (Lycaenidae). Дж.Н. Элиот (Eliot, 1973) рассматривал *S. infernalis* в составе особого семейства Stygidae, а голубянок (Lycaenidae) и риодинид (Riodinidae) – также в качестве самостоятельных семейств. По мнению Дж.А. Скотта (Scott, 1985), *S. infernalis* является отдельной ветвью, отделившейся от линии, ведущей к семействам риодинид и голубянок. В 1987 г. Д.Дж. Харви (Harvey, 1987) на основании признаков гениталий самок и особенностей строения сенсилл на передней лапке включил род *Styx* в семейство Riodinidae, с чем в 1988 г. согласился Р.К. Роббинс, изучив детальное строение ног голубянок и риодинид при помощи сканирующей электронной микроскопии (Robbins, 1988). Позже это подтвердили и молекулярно-генетические данные (Wahlberg et al., 2005). К.С. Браун полагал, что *S. infernalis* является наиболее примитивной риодинидой из существующих в настоящее время (Brown, 1993).

OVERVIEW

S. infernalis was described by the German classic of lepidopterology Otto Staudinger (Staudinger, 1876) from Chanchamayo (central Peru) for two males and one female. In the original description, the author noted the high originality of this dark transparent butterfly, mentioning that one of the entomologists he knew even considered it a Heterocera. Nevertheless, Staudinger was sure that it was a representative of Pieridae, and included the genus *Styx* in this family. “This strange species seems to come from the underworld, and not from the lush tropical vegetation of Peru, which led me to a somewhat strange name”, Staudinger wrote in his work.

In the work of another classic of lepidopterology – Adalbert Seitz (Seitz, 1924) – *S. infernalis* was also considered to be Pieridae, however, the inconclusiveness of its present taxonomy was discussed. According to Seitz, by appearance and character of venation, *S. infernalis* resembles Pieridae, but at the same time, the structure of the hindwings is not much different from that of Ithomiidae (at present, Ithomiidae are considered as a tribe of the subfamily Danainae of the family Nymphalidae), and the structure of labial palps and legs shows a strong resemblance to the Erycinidae (an invalid family name for the Riodinidae). Previously (Jordan, 1909), it was proposed to attribute *S. infernalis* to Erycinidae based on the structure of the antennae, thorax, legs, venation, and eggs.

In 1958, P.R. Ehrlich (Ehrlich, 1958) included the genus *Styx* in a separate subfamily Styginae, which, along with Lycaeninae and Riodininae, he considered as a subfamily of Lycaenidae. J.N. Eliot (Eliot, 1973) considered *S. infernalis* as part of a special family Stygidae, and Lycaenidae and Riodinidae also as independent families. According to J.A. Scott (Scott, 1985), *S. infernalis* is a separate branch, separated from the line leading to families Lycaenidae and Riodinidae. In 1987, D.J. Harvey (Harvey, 1987) based on the features of the female genitalia and structural features of the sensilla on the foreleg, included the genus *Styx* in the family



Рис. 2. *Hamearis lucina* (Linnaeus, 1758). Германия, Йена (коллекция Зоологического музея МГУ) (фото Ю.А. Ловцовой)

Fig. 2. *Hamearis lucina* (Linnaeus, 1758). Germany, Jena (collection of the Zoological Museum of Moscow State University) (photo by J.A. Lovtsova)



Рис. 3. *Amarynthis meneria* (Cramer, [1776]). Перу, провинция Сатипо (энтомологический фонд ФГБУ «ВНИИКР») (фото Ю.А. Ловцовой)

Fig. 3. *Amarynthis meneria* (Cramer, [1776]). Peru, Satipo Province (FGBU “VNIICKR” Entomological Fund) (photo by J.A. Lovtsova)

В результате молекулярно-генетических исследований последних лет, посвященных филогении риодинид, было выяснено, что *Styx*, совместно с монотипическим родом *Corrachia* Schaus, 1913 из Коста-Рики, филогенетически ближе к риодинидам Старого Света, чем Нового (Wahlberg et al., 2005; Espeland et al., 2015; Seraphim et al., 2018), что явилось неожиданностью.

Согласно последним данным, *Styx* и *Corrachia* вместе с родами Старого Света образуют трибу Nemeobiini в составе подсемейства Nemeobiinae (Seraphim et al., 2018). К *Styx* наиболее близки роды *Corrachia*, *Zemeros*, *Stiboges*, *Dodona*, *Takashia*, *Hamearis* и *Polycaena*. Все они объединены в группу Nemeobiina (Seraphim et al., 2018). Любопытно отметить, что один из них, монотипический род *Hamearis*, является единственным представителем семейства Riodinidae в Европе. Его единственный вид – *Hamearis lucina* (Linnaeus, 1758) (рис. 2) – встречается в том числе и в европейской части России, а также, по нуждающимся в подтверждении данным, на Южном Урале (Коршунов, 2000; Львовский, 2019).

Другие риодиниды распространены исключительно в Новом Свете. Они относятся к трибе Euselasiini подсемейства Nemeobiinae, которую еще недавно рассматривали как отдельное подсемейство Euselasiinae (Callaghan & Lamas, 2004; Espeland et al., 2015), а также к подсемейству Riodininae (рис. 3, 4, 6), составляющему 80% всех риодинид по видовому разнообразию. Считается, что риодиниды происходят из тропиков Нового Света и часть из них расселилась в Старый Свет через Берингийский сухопутный мост (Espeland et al., 2015). Предки *S. infernalis* и *Corrachia leucoplaga* Schaus, 1913 проникли обратно в Новый Свет предположительно в олигоцене (Espeland et al., 2015).

S. infernalis – эндемик Перу, распространен в Андах на высотах 1000–1600 м над уровнем моря, встречается всегда локально, обитая в первичных туманных лесах с ущельями, реками с крутыми склонами, водопадами и порогами. Как и *C. leucoplaga*, *S. infernalis* питается растениями рода *Myrsine* (Primulaceae) (Lamas, 2003; Nishida, 2010). Рейтинга Международного союза охраны природы и природных ресурсов (МСОП) не имеет, хотя считается уязвимым (Brown, 1993). Главной угрозой виду служит уничтожение его местообитаний под кофейные и другие плантации. Основной мерой охраны *S. infernalis* специалисты считают обнаружение его популяций и сохранение мест обитания (Brown, 1993).

В 2016 г. сотрудниками ФГБУ «ВНИИКР» в результате энтомологической экспедиции в Перу был пойман 1 самец этого вида (рис. 1). Локалитет представлен на рисунке 5. В доступных источниках о местах поимок *S. infernalis* (Staudinger, 1876; Brown, 1993; Lamas et al., 1999; Lamas, 2003; Boldsystems, 2022; iNaturalist, 2022 и др.) данной точки не приводилось.

Несколько других видов семейства риодинид (подсемейство Riodininae), собранных нами в той же локации, представлены на рисунках 3, 4, 6. Данное место представляет собой первичный туманный лес, неподалеку от которого располагаются кофейные плантации.

В литературе приводятся различные сведения об образе жизни *S. infernalis*. Например, в одних

Riodinidae, with which R.K. Robbins agreed in 1988, after examining the detailed structure of the legs of Lycaenidae and Riodinidae using scanning electron microscopy (Robbins, 1988). This was later confirmed by molecular genetic data (Wahlberg et al., 2005). K.S. Brown believed that *S. infernalis* is the most primitive Riodinidae currently existing (Brown, 1993).

As a result of recent molecular genetic studies on Riodinidae phylogeny, it was found that *Styx*, together with the monotypic genus *Corrachia* Schaus, 1913 from Costa Rica, is phylogenetically closer to Old World than New World Riodinidae (Wahlberg et al., 2005; Espeland et al., 2015; Seraphim et al., 2018), which was surprise.

According to the latest data, *Styx* and *Corrachia* together with the genera of the Old World form the tribe Nemeobiini in the subfamily Nemeobiinae (Seraphim et al., 2018). The genera *Corrachia*, *Zemeros*, *Stiboges*, *Dodona*, *Takashia*, *Hamearis* and *Polycaena* are the closest to *Styx*. All of them are combined into the Nemeobiina group (Seraphim et al., 2018). It is interesting to note that one of them, the monotypic genus *Hamearis*, is the only representative of the family Riodinidae in Europe. Its only species – *Hamearis lucina* (Linnaeus, 1758) (Fig. 2) – also occurs in the European part of Russia, and also, according to data that needs to be confirmed, in the Southern Urals (Korshunov, 2000; Lvovsky, 2019).

Other Riodinidae are distributed exclusively in the New World. They belong to the tribe Euselasiini of the subfamily Nemeobiinae, which until recently was considered as a separate subfamily of Euselasiinae (Callaghan & Lamas, 2004; Espeland et al., 2015), as well as to the subfamily Riodininae (Fig. 3, 4, 6), constituting 80% of all Riodinidae by species diversity. It is believed that Riodinidae originate from the tropics of the New World and some of them settled in the Old World through the Bering land bridge (Espeland et al., 2015). The ancestors of *S. infernalis* and *Corrachia leucoplaga* Schaus, 1913 were introduced back into the New World, presumably in the Oligocene (Espeland et al., 2015).



Рис. 4. *Ancyluris meliboeus* (Fabricius, 1777). Перу, провинция Сатипо (энтомологический фонд ФГБУ «ВНИИКР») (фото Ю.А. Ловцовой)

Fig. 4. *Ancyluris meliboeus* (Fabricius, 1777). Peru, Satipo Province (FGBU “VNIICR” Entomological Fund) (photo by J.A. Lovtsova)



Рис. 5. Место поимки *S. infernalis*. Провинция Сатипо, район Пампа-Эрмоса, водопад Галито-де-лас-Рокас в окрестностях деревни Сан-Антонио на высоте 1400 м над уровнем моря (фото Я.Н. Коваленко)



Fig. 5. *S. infernalis* collection site. Satipo province, Pampa Hermosa region, Gallito de las Rocas waterfall in the vicinity of the village of San Antonio at an altitude of 1400 m above sea level (photo by Ya.N. Kovalenko)

источниках указывается, что он активен около полудня, на солнечных участках (Brown, 1993). Другие же авторы указывают на предположительно ночной образ жизни: так, Б. Персер сообщил, что эта бабочка прилетела к нему на экран во время лова на свет в 9 часов вечера (Purser, 2007). Нами *S. infernalis* был пойман в сумерках, сидящим у кромки речной воды рядом с водопадом.

Собранный экземпляр был депонирован в энтомологический фонд ФГБУ «ВНИИКР».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Помещенный в коллекцию энтомологического фонда ФГБУ «ВНИИКР» *S. infernalis* является одним из немногих экземпляров этой уникальной бабочки,



Рис. 6. *Baeotis bacaenis* Hewitson, 1874 в природе. Перу, провинция Сатипо (фото М.Г. Коваленко)

Fig. 6. *Baeotis bacaenis* Hewitson, 1874 in nature. Peru, Satipo province (photo by M.G. Kovalenko)

S. infernalis is endemic to Peru, distributed in the Andes at an altitude of 1000–1600 m above sea level, always found locally, living in primary foggy forests with gorges, steep-sided rivers, waterfalls and rapids. Like *C. leucoplaga*, *S. infernalis* feeds on plants of the genus *Myrsine* (Primulaceae) (Lamas, 2003; Nishida, 2010). It is not rated by the International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN), although it is considered vulnerable (Brown, 1993). The main threat to the species is the destruction of its habitats for coffee and other plantations. Experts consider the detection of its populations and the conservation of habitats to be the main measure for the protection of *S. infernalis* (Brown, 1993).

In 2016, as a result of an entomological expedition to Peru, FGBU “VNIIEKR” specialists collected 1 male of this species (Fig. 1). The locality is shown in Fig. 5. This point was not given in the available sources about the places of captures of *S. infernalis* (Staudinger, 1876; Brown, 1993; Lamas et al., 1999; Lamas, 2003; Boldsystems, 2022; iNaturalist, 2022, etc.).

Several other species of the Riodinidae family (subfamily Riodininae), collected by us in the same location, are shown in Fig. 3, 4, 6. This place is a primary foggy forest, not far from which coffee plantations are located.

The literature provides various data on the lifestyle of *S. infernalis*. For example, some sources indicate that it is active around noon, in sunny areas (Brown, 1993). Other authors point to a presumably nocturnal lifestyle: for example, B. Purser reported that this butterfly flew to his screen while catching by light at 9 pm (Purser, 2007). We collected *S. infernalis* at dusk, sitting at the edge of the river water next to the waterfall.

The collected specimen was deposited in the FGBU “VNIIEKR” Entomological Fund.

CONCLUSION

Deposited in the FGBU “VNIIEKR” Entomological Fund, *S. infernalis* is one of the few specimens of this unique butterfly in Russian collections and can be used for morphological and molecular genetic studies by Russian scientists.

хранящихся в России, и может быть использован для морфологических и молекулярно-генетических исследований российскими учеными.

Благодарность. Авторы выражают глубокую благодарность В.В. Изерскому (Перу, Сатино) за содействие в проведении энтомологической экспедиции и за помощь в идентификации собранного материала, а также А.В. Свиридову (Зоологический музей МГУ) за предоставление необходимого материала и И.А. Юдакову за консультации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коршунов Ю. Булавоусые чешуекрылые Урала, Сибири и Дальнего Востока. Определитель и аннотации. – Новосибирск, 2000, 218 с.
2. Львовский А. Семейство Риодиниды (Riodinidae) (с. 214). В кн.: Каталог чешуекрылых (Lepidoptera) России. Издание второе / под ред. С.Ю. Синева. – Санкт-Петербург: Зоологический институт РАН, 2019, 448 с.
3. Brown K., 1993. Selected Neotropical species (p. 146–149). In: Conservation biology of Lycaenidae (butterflies). – Gland, Switzerland: IUCN, 173 p.
4. Callaghan C., Lamas G. Riodinidae (p. 141–170). In: G. Lamas [ed.], Checklist: Part 4A. Hesperioidea – Papilionoidea, in: J.B. Heppner [ed.], Atlas of Neotropical Lepidoptera 5A. – Association for Tropical Lepidoptera / Scientific Publishers, Gainesville, 2004, 439 p.
5. Ehrlich P., 1958. The comparative morphology, phylogeny and higher classification of the butterflies. – University of Kansas Science Bulletin, Vol. 39: 305–370.
6. Eliot J., 1973. The higher classification of the Lycaenidae (Lepidoptera): a tentative arrangement. – Bulletin of the British Museum (Natural History). Entomology, Vol. 28: 371–505.
7. Espeland M., Hall J., DeVries P., Lees D., Cornwall M., Hsu Yu.-F., Wu L.-W., Campbell D., Talavera G., Vila R., Salzman Sh., Ruehr S., Lohman D., Pierce N., 2015. Ancient Neotropical origin and recent recolonisation: phylogeny, biogeography and diversification of the Riodinidae (Lepidoptera: Papilionoidea). – Molecular Phylogenetics and Evolution, Vol. 93: 296–306.
8. Harvey D. The higher classification of the Riodinidae (Lepidoptera). – Dissertation, The University of Texas at Austin, 1987, 216 p.
9. Jordan K. [Communication of Wednesday, March 17th, 1909] in Newman's Entomologist (p. 162). – Societies. Simpkin, Marshall & Company, 1909. 328 p.
10. Lamas G. Las mariposas de Machu Picchu. Guía ilustrada de las mariposas del Santuario Histórico de Machu Picchu, Cuzco, Perú. – PROFONANPE, Lima, 2003, 221 p., 34 pls.
11. Lamas G., Grados J., Valencia G., 1999. Las mariposas de Machu Picchu, Cuzco, Perú: Un inventario preliminar (Lepidoptera: Rhopalocera). – Revista peruana de entomologica, Vol. 41: 1–8.
12. Nishida K., 2010. Description of the immature stages and life history of *Euselasia* (Lepidoptera: Riodinidae) on *Miconia* (Melastomataceae) in Costa Rica. – Zootaxa, 2466, 1–74.
13. Purser B. Jungle Bugs in the Night: Scientific Adventure in the Tropical Forests of the World. – Pensoft Publishers, 2007, 168 p.
14. Robbins R.K., 1988. Male Foretarsal Variation in Lycaenidae and Riodinidae, and the Systematic

Acknowledgment. The authors are deeply grateful to V.V. Izersky (Peru, Satipo) for facilitating the entomological expedition and for assistance in identifying the collected material, as well as to A.V. Sviridov (Zoological Museum of Moscow State University) for providing the necessary material and I.A. Yudakov for consultations.

REFERENCES

1. Korshunov Yu. Rhopalocera lepidopteras of the Urals, Siberia and the Far East. Key and annotations [Bulavousyie cheshuyekrylyye Urala, Sibiri i Dal'nego Vostoka. Opredelitel' i annotatsii]. Novosibirsk, 2000; 218 p. (in Russian).
2. Lvovsky A. Riodinidae Family (p. 214) [Semeystvo Riodinidy (Riodinidae)]. In: Catalog of Lepidoptera of Russia. Second edition, ed. S.Yu. Sinev. St. Petersburg: Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, 2019, 448 p. (in Russian).
3. Brown K., 1993. Selected Neotropical species (p. 146–149). In: Conservation biology of Lycaenidae (butterflies). Gland, Switzerland: IUCN, 173 p.
4. Callaghan C., Lamas G. Riodinidae (p. 141–170). In: G. Lamas [ed.], Checklist: Part 4A. Hesperioidea – Papilionoidea, in: J.B. Heppner [ed.], Atlas of Neotropical Lepidoptera 5A. Association for Tropical Lepidoptera / Scientific Publishers, Gainesville, 2004, 439 p.
5. Ehrlich P. The comparative morphology, phylogeny and higher classification of the butterflies. *University of Kansas Science Bulletin*, 1958; Vol. 39: 305–370.
6. Eliot J. The higher classification of the Lycaenidae (Lepidoptera): a tentative arrangement. *Bulletin of the British Museum (Natural History). Entomology*, 1973; Vol. 28: 371–505.
7. Espeland M., Hall J., DeVries P., Lees D., Cornwall M., Hsu Yu.-F., Wu L.-W., Campbell D., Talavera G., Vila R., Salzman Sh., Ruehr S., Lohman D., Pierce N. Ancient Neotropical origin and recent recolonisation: phylogeny, biogeography and diversification of the Riodinidae (Lepidoptera: Papilionoidea). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2015; Vol. 93: 296–306.
8. Harvey D. The higher classification of the Riodinidae (Lepidoptera). Dissertation, The University of Texas at Austin, 1987, 216 p.
9. Jordan K. [Communication of Wednesday, March 17th, 1909] in Newman's Entomologist (p. 162). Societies. Simpkin, Marshall & Company, 1909. 328 p.
10. Lamas G. Las mariposas de Machu Picchu. Guía ilustrada de las mariposas del Santuario Histórico de Machu Picchu, Cuzco, Perú. PROFONANPE, Lima, 2003, 221 p., 34 pls.
11. Lamas G., Grados J., Valencia G. Las mariposas de Machu Picchu, Cuzco, Perú: Un inventario preliminar (Lepidoptera: Rhopalocera). *Revista peruana de entomologica*, 1999; Vol. 41: 1–8.
12. Nishida K. Description of the immature stages and life history of *Euselasia* (Lepidoptera: Riodinidae) on *Miconia* (Melastomataceae) in Costa Rica. *Zootaxa*, 2010; 2466, 1–74.
13. Purser B. Jungle Bugs in the Night: Scientific Adventure in the Tropical Forests of the World. Pensoft Publishers, 2007, 168 p.

Placement of *Styx infernalis* (Lepidoptera). – Proceedings of the Entomological Society of Washington, Vol. 90: 356–368.

15. Scott J., 1985. The phylogeny of butterflies (Papilionoidea and Hesperioidea). – The Journal of Research on the Lepidoptera, Vol. 23: 241–281.

16. Seitz A. The Macrolepidoptera of the world: a systematic description of the hitherto known Macrolepidoptera. Division 2. Fauna exotica. Vol. V. The American Rhopalocera. – Stuttgart: Alfred Kern Verlag, 1924, 1139 p.

17. Staudinger O., 1876. Neue Lepidopteren des südamerikanischen Faunengebiets. Verhandlungen Kais. – Verhandlungen der Kaiserlich-Königlichen Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien, Bd. 25: 89–124.

18. Seraphim N., Kaminski L., DeVries P.J., Penz C., Callaghan C., Wahlberg N., Silva-Brandao K., Freitas A., 2018. Molecular phylogeny and higher systematics of the metalmark butterflies (Lepidoptera: Riodinidae). – Systematic Entomology, 43 (2): 407–425.

19. Wahlberg N., Braby M., Brower A.V.Z., de Jong R., Lee M.-M., Nylin S., Pierce N.E., Sperling F.A.H., Vila R., Warren A.D., Zakharov E., 2005. Synergistic effects of combining morphological and molecular data in resolving the phylogeny of butterflies and skippers. – Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, Vol. 272: 1577–1586.

20. Boldsystems [Электронный ресурс]. – URL: v3.boldsystems.org (дата обращения: 20.08.2022).

21. iNaturalist [Электронный ресурс]. – URL: www.inaturalist.org (дата обращения: 20.08.2022).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Коваленко Маргарита Григорьевна, старший научный сотрудник лаборатории экологии и генетики насекомых и клещей научно-методического отдела энтомологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0001-7824-9277, e-mail: bush_zbs@mail.ru.

Ловцова Юлия Александровна, старший научный сотрудник научно-методического отдела энтомологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-7266-6229, e-mail: julialov@inbox.ru.

Коваленко Яков Николаевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-методического отдела энтомологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-2572-9522, e-mail: sinodendron.rus@gmail.com.

14. Robbins R.K. Male Foretarsal Variation in Lycaenidae and Riodinidae, and the Systematic Placement of *Styx infernalis* (Lepidoptera). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 1988; Vol. 90: 356–368.

15. Scott J. The phylogeny of butterflies (Papilionoidea and Hesperioidea). *The Journal of Research on the Lepidoptera*, 1985; Vol. 23: 241–281.

16. Seitz A. The Macrolepidoptera of the world: a systematic description of the hitherto known Macrolepidoptera. Division 2. Fauna exotica. Vol. V. The American Rhopalocera. Stuttgart: Alfred Kern Verlag, 1924, 1139 p.

17. Staudinger O. Neue Lepidopteren des südamerikanischen Faunengebiets. *Verhandlungen Kais. Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien*, 1876; Bd. 25: 89–124.

18. Seraphim N., Kaminski L., DeVries P.J., Penz C., Callaghan C., Wahlberg N., Silva-Brandao K., Freitas A. Molecular phylogeny and higher systematics of the metalmark butterflies (Lepidoptera: Riodinidae). *Systematic Entomology*, 2018; 43 (2): 407–425.

19. Wahlberg N., Braby M., Brower A.V.Z., de Jong R., Lee M.-M., Nylin S., Pierce N.E., Sperling F.A.H., Vila R., Warren A.D., Zakharov E. Synergistic effects of combining morphological and molecular data in resolving the phylogeny of butterflies and skippers. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2005; Vol. 272: 1577–1586.

20. Boldsystems [Electronic resource]. URL: v3.boldsystems.org (last accessed: 20.08.2022).

21. iNaturalist [Electronic resource]. URL: www.inaturalist.org (last accessed: 20.08.2022).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Margarita Kovalenko, Senior Researcher, Ecology and Genetics of Insects and Mites Laboratory of the Research and Methodological Department of Entomology, FGBU “VNIKР”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0001-7824-9277, e-mail: bush_zbs@mail.ru.

Julia Lovtsova, Senior Researcher, Research and Methodological Department of Entomology, FGBU “VNIKР”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-7266-6229, e-mail: julialov@inbox.ru.

Yakov Kovalenko, PhD in Biology, Senior Researcher, Research and Methodological Department of Entomology, FGBU “VNIKР”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-2572-9522, e-mail: sinodendron.rus@gmail.com.

Здесь может быть ваша статья!

Журнал «Фитосанитария. Карантин растений» приглашает авторов для публикации своих научных работ

Редакция журнала «Фитосанитария. Карантин растений» рада предложить вам возможность публикации ваших статей на страницах журнала. Наша цель – привлечение внимания к наиболее актуальным проблемам карантина растений специалистов сельского хозяйства и всех заинтересованных в этом людей.

В журнале рассматриваются основные направления развития науки и передового опыта в области карантина и защиты растений, публикуется важная информация о новых методах и средствах, применяемых как в России, так и за рубежом, а также о фитосанитарном состоянии территории Российской Федерации.

Мы доносим до широкого круга читателей объективную научно-просветительскую и аналитическую информацию: мнения ведущих специалистов по наиболее принципиальным вопросам карантина растений, данные о значимых новейших зарубежных и отечественных исследованиях, материалы тематических конференций.

Редакция журнала «Фитосанитария. Карантин растений» приглашает к сотрудничеству как выдающихся деятелей науки, так и молодых ученых, специалистов-практиков, работающих в области фитосанитарии, для обмена опытом, обеспечения устойчивого фитосанитарного благополучия и для новых научных дискуссий.

ЗАДАЧИ ЖУРНАЛА

- Изучение основных тенденций развития науки в области карантина растений
- Анализ широкого круга передовых технологий в области мониторинга и лабораторных исследований по карантину растений
- Обсуждение актуальных вопросов карантина растений

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫМ СТАТЬЯМ

К публикации принимаются статьи на двух языках: русском и английском, содержащие результаты собственных научных исследований, объемом до 15 страниц, но не менее 3 (при одинарном интервале и размере шрифта 12). Оптимальный объем статьи – от 1500 слов. Статьи большего объема могут быть приняты по согласованию с редакцией журнала.

СТРУКТУРА ПРЕДОСТАВЛЯЕМОЙ СТАТЬИ*

1. УДК, название статьи.
2. Инициалы, фамилия автора.
3. Место работы автора, город, страна, ORCID ID, адрес электронной почты.
4. Аннотация (краткое точное изложение содержания статьи, включающее фактические сведения и выводы описываемой работы): 200–250 слов, но не более 2000 знаков с пробелами.
5. Ключевые слова (5–10 слов, словосочетаний), наиболее точно отображающие специфику статьи.
6. Введение.
7. Материалы и методы.
8. Результаты и обсуждения.
9. Выводы/заключение.
10. Список литературы (т. е. список всей использованной литературы, ссылки на которую даются в самом тексте статьи): правила составления направляются автору по запросу.
11. Информация об авторах: приводится полная информация о каждом из авторов (место работы, город, страна, ORCID ID, адрес электронной почты).
12. Иллюстративные материалы (фотографии, рисунки) допускаются хорошей контрастности, с разрешением не ниже 300 точек на дюйм (300 dpi), оригиналы прикладываются к статье отдельными файлами в формате .tiff или .jpeg (иллюстрации, не соответствующие требованиям, будут исключены из статей, поскольку достойное их воспроизведение типографским способом невозможно). Необходимо указать авторство каждой фотографии (Ф. И. О. фотографа или ссылку).
13. В редакцию необходимо предоставить две рецензии на статью («внешнюю» и «внутреннюю»).

* В таком же порядке и структуре предоставляется англоязычный перевод статьи.

Работа должна быть предоставлена в редакторе WORD, формат DOC, шрифт Times New Roman, размер шрифта – 12, межстрочный интервал – одинарный, размер полей по 2 см, отступ в начале абзаца 1 см, форматирование по ширине. Рисунки, таблицы, схемы, графики и пр. должны быть обязательно пронумерованы, иметь источники и помещаться на печатном поле страницы. Название таблицы – над таблицей; название рисунка/графика – под рисунком/графиком.

БОЛЕЕ ПОДРОБНЫЕ УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ СТАТЕЙ ВЫ МОЖЕТЕ УЗНАТЬ В НАШЕЙ РЕДАКЦИИ:

Адрес: 140150, Россия, Московская область, г. Раменское,
р. п. Быково, ул. Пограничная, д. 32
Контактное лицо: Зиновьева Светлана Георгиевна
Телефон: 8 (499) 707-22-27, e-mail: zinoveva-s@mail.ru

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»)



- Научное и методическое обеспечение деятельности Россельхознадзора, его территориальных управлений и подведомственных ему учреждений в сфере карантина и защиты растений

- Установление карантинного фитосанитарного состояния подкарантинных материалов и территории Российской Федерации путем проведения лабораторных экспертиз и мониторингов

- Научное сотрудничество с национальными и международными организациями в области карантина растений

- Ведущее учреждение в Российской Федерации по синтезу и применению феромонов для выявления карантинных и некарантинных вредителей и борьбы с ними
- ФГБУ «ВНИИКР» – партнер международной программы по координации научных исследований в области карантина растений EUPHRESKO II (European Phytosanitary RESEARCH COordination)
- В ФГБУ «ВНИИКР» создан и действует Технический комитет по стандартизации ТК 42 «Карантин и защита растений»
- Ведущее научно-методическое учреждение в составе Координационного совета по карантину растений государств – участников СНГ
- 19 филиалов на территории Российской Федерации
- Головное научно-методическое учреждение по реализации Плана первоочередных мероприятий, направленных на гармонизацию карантинных фитосанитарных мер государств – членов Таможенного союза

140150, Россия,
Московская область,
г. Раменское, р. п. Быково,
ул. Пограничная, д. 32

Тел./факс:
8 (499) 707-22-27

e-mail: office@vniikr.ru
<http://www.vniikr.ru>